

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
8. Juli 2004 (08.07.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2004/056857 A3

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07K 14/47, C12N 15/11, A61K 38/17, G01N 33/50, A01K 67/027

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/014762

(22) Internationales Anmeldedatum:  
19. Dezember 2003 (19.12.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO Patent (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(30) Angaben zur Priorität:  
102 61 650.7 20. Dezember 2002 (20.12.2002) DE

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): ERNST-MORITZ-ARNDT-UNIVERSITÄT GREIFSWALD [DE/DE]; Domstr. 11, 17487 Greifswald (DE).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 28. Oktober 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(72) Erfinder; und  
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KLÖTING, Ingrid [DE/DE]; Am Sportplatz 9, 17495 Lühmannsdorf (DE). KLÖTING, Nora [DE/DE]; Am Sportplatz 14, 17495 Lühmannsdorf (DE).

(74) Anwälte: WEBER-QUITZAU, Martin usw.; Uexküll & Stolberg, Beselerstr. 4, 22607 Hamburg (DE).

(54) Title: USE OF THE MULTIFUNCTIONAL TRANSCRIPTION FACTOR YIN-YANG-1 AND VARIANTS THEREOF FOR TREATING ILLNESSES, ESPECIALLY TYPE 1 DIABETES

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG DES MULTIFUNKTIONELLEN TRANSKRIPTIONSFAKTORS YIN-YANG-1 UND VARIANTEN DAVON ZUR BEHANDLUNG VON ERKRANKUNGEN, INSbesondere VON TYP-1 DIABETES

(57) Abstract: The invention relates to the influence of the activity and/or the expression of the multifunctional transcription factor Yin-Yang-1 (YY1), and of variants thereof, for the treatment of many different illnesses. The invention especially relates to a mutated nucleic acid sequence which codes for a variant of the human YY1 and has a protective action against diabetes, according to the invention.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die Beeinflussung der Aktivität und/oder der Expression des multifunktionellen Transkriptionsfaktors Yin-Yang-1 (YY1) und Varianten davon zur Behandlung verschiedenster Erkrankungen. Die Erfindung betrifft insbesondere eine mutierte Nukleinsäuresequenz, die für eine Variante des humanen YY1 kodiert und der Erfindungsgemäß eine diabetesprotektive Wirkung zugeschrieben wird.

WO 2004/056857 A3

10/539535

JC05 Rec'd PCT/PTO 17 JUN 2005

77/PBfS

Verwendung des multifunktionellen Transkriptionsfaktors  
Yin-Yang-1 und Varianten davon zur Behandlung von Erkrankun-  
gen, insbesondere von Typ-1 Diabetes

Die vorliegende Erfindung betrifft die Beeinflussung der Aktivität und/oder der Expression des multifunktionellen Transkriptionsfaktors Yin-Yang-1 (YY1) und Varianten davon zur Behandlung verschiedenster Erkrankungen. Die Erfindung betrifft insbesondere eine mutierte Nukleinsäuresequenz, die für eine Variante des humanen YY1 kodiert und der erfindungsgemäß eine diabetesprotektive Wirkung zugeschrieben wird.

#### Einführung

Der insulinabhängige Typ-1-Diabetes (IDDM- Insulin-Dependent Diabetes Mellitus) ist eine komplexe Erkrankung, bei der zelluläre und humorale Immunprozesse ablaufen, die eine Zerstö-

rung der körpereigenen Insulin-produzierenden Beta-Zellen zur Folge haben. Man spricht daher beim Typ-1-Diabetes von einer Autoimmunerkrankung. Es besteht heute kein Zweifel mehr, daß der Typ-1-Diabetes genetisch determiniert ist. Gesichert ist, daß bestimmte Klasse-II-Gene des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC), der beim Menschen als HLA (Human Leucocyte Antigens) bezeichnet wird, an der Entstehung des Typ-1-Diabetes beteiligt, aber allein nicht ausreichend sind. Diese diabetes-suszeptiblen Klasse-II-Gene, die als IDDM1 bezeichnet werden, erklären nur etwa 40% des Risikos, an einem Typ-1-Diabetes zu erkranken. Daher wurde in den letzten Jahren versucht, chromosomal Regionen mit diabetogenen Nicht-MHC-Genen zu lokalisieren. Im Ergebnis dieser Studien wurden bis dato mehr als 17 Nicht-MHC-Gene (IDDM2, IDDM3, IDDM4 etc.), die auf verschiedenen Chromosomen kartieren, beschrieben. Mit Ausnahme des IDDM2 und IDDM18, bei denen das diabetogene Gen bekannt ist, sind bei den anderen IDDM's die entsprechenden Gene immer noch unbekannt (1,2).

Bei der Identifikation dieser Nicht-MHC-Gene sind Modelltiere, die ähnlich dem Menschen einen Typ-1-Diabetes entwickeln, sehr hilfreich. Als Modelltier für den Typ-1-Diabetes ist die spontan diabetische BB/Ottawa/Karlsburg-Ratte ausgezeichnet geeignet, da dieses Modelltier sowohl klinisch, als auch ätiopathogenetisch ein hohes Maß an Analogien zum menschlichen Typ-1-Diabetes aufweist (3-7). Auch bei der BB/OK-Ratte sind die Klasse-II-Gene des MHC essentiell aber nicht ausreichend für die Diabetesentwicklung. Die BB/OK-Ratte ist homozygot für den MHC-Haplotyp RT1<sup>u</sup>. Analog dem Menschen wird dieses diabetogene Gen als Iddm1 bezeichnet. Neben diesem Genkomplex ist bei der BB/OK-Ratte allerdings noch ein weiteres Gen, Iddm2, für die Diabetesentwicklung erforderlich. Es handelt sich dabei um ein Gen (1), daß eine Lymphopenie verursacht, rezessiv vererbt und

als Iddm2 bezeichnet wird. Daß beide diabetogenen Gene, Iddm1 und Iddm2, zwar essentiell aber nicht ausreichend sind, wurde durch verschiedene Kreuzungsstudien unter Nutzung diabetischer BB/OK-Ratten und verschiedener diabetesresistenter Rattenstämme belegt (8-11). Gleichgültig, ob diabetesresistente LEW.1A, DA, SHR oder wilde Ratten (12) mit diabetischen BB/OK-Ratten gekreuzt wurden, entwickelte kein F1-Hybrid und nur etwa 50% der für beide diabetogenen Gene Iddm1 und Iddm2 bereits homozygoten ersten Rückkreuzungshybriden (R1) einen Typ-1-Diabetes. Der Prozentsatz von 50% an diabetischen Tieren bei den für Iddm1 und Iddm2 bereits homozygoten R1-Hybriden weist darauf hin, daß mindestens ein weiteres diabetogenes Gen, Iddm3, für die Entwicklung eines Diabetes bei BB/OK-Ratten notwendig ist. Die genomweite Suche nach diesem dritten Gen in zwei Kreuzungspopulationen, [(BB x DA)F1 x BB] und [(BB x SHR)F1 x BB], zeigte, daß dieses „dritte Gen“ nicht nur ein Gen ist. Es wurden zwei diabetogene Gene, Iddm3 und Iddm4, auf Chromosom 18 bzw. 6 und ein Diabetes-protektives Gen, Iddm5r, auf Chromosom 1 kartiert (13,14). Während Iddm3 in beiden Kreuzungspopulationen nachgewiesen und damit bestätigt wurde (13), waren Iddm4 und Iddm5r nur bei [(BB x SHR)F1 x BB] R1-Hybriden nachweisbar (14).

Vergleicht man die homologen Bereiche zwischen Ratte und Mensch, zeigt sich, daß beim Menschen die homologen Regionen für Iddm3 auf 18q21-q23, Iddm4 auf 14q24-q32 und Iddm5r auf 11p15 kartieren. Es handelt sich dabei um Bereiche, bei denen auch beim Menschen die diabetogenen Gene IDDM6 auf 18q21-23 (Iddm3), IDDM11 auf 14q24-q32 (Iddm4) und IDDM2 auf 11p15 (Iddm5r) kartiert wurden (15-17).

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher zunächst, die diabetogenen Gene zu identifizieren und therapeutische Ansätze zur Verhinderung der Typ-1-Diabetes zu formulieren.

Im Rahmen der Erfindung wurde überraschenderweise ein Gen identifiziert, das im diabetesprotektiven chromosomalen Bereich liegt, dessen mutierte Varianten geeignet sind, im Rattenmodell Typ-1-Diabetes zu verhindern. Infolge dieser Erkenntnis steht damit erstmals ein wichtiger therapeutischer Ansatz für Diagnose und Präventivtherapie von Typ-1-Diabetes zur Verfügung. Darüber hinaus ergeben sich durch weitere, erfindungsgemäß gewonnene Erkenntnisse vielfältige zusätzliche Anwendungsmöglichkeiten, die nachfolgend ebenfalls beschrieben werden.

### Vorarbeiten

Um zu prüfen, welche Bedeutung die kartierten Iddm's der BB/OK-Ratte tatsächlich bei den Entstehung eines Typ-1-Diabetes haben, wurden verschiedene kongene BB/OK-Rattenlinien etabliert.

Neben den bereits beschriebenen kongenen BB.SHR-Linien (BB.1K, BB.Sa, BB.LL, BB.Bp2, BB.Xs) wurden zwei weitere BB.SHR-Linien etabliert (18-24). Es wurde ein Bereich von Chromosom 6 (D6Rat184 - Iddm4 - D6Rat3, ca.15 cM) und einer von 18 (Olf - Iddm3 -D18Rat44, ca.24 cM) der BB/OK-Ratte durch den der SHR-Ratten ersetzt (24). Die phänotypische Charakterisierung dieser neu etablierten BB-Linien, kurz als BB.6S und BB.18S bezeichnet, zeigte, daß die Diabetesinzidenz in beiden Kongenen gesenkt werden konnte, besonders allerdings bei der kongenen BB.6S-Linie (24). Während ca. 86% aller BB/OK-Ratten einen Typ-1-Diabetes bis zur 32. Lebenswoche entwickeln, erkrankten

im gleichen Zeitraum in der neu etablierten BB.6S-Linie nur 14% und das, obwohl die BB.6S-Tiere homozygot für Iddm1 und Iddm2 sind und im Restgenom der BB/OK-Ratte entsprechen, wie durch einen genomweite Analyse bestätigt wurde (24). D.h. die Wirkung beider essentiellen diabetogenen Gene, Iddm1 und Iddm2, wird durch ein oder mehr Gen/e auf dem transferierten Bereich der diabetes-resistenten SHR-Ratte nahezu vollständig unterdrückt. Ein Ergebnis, welches bis dato einmalig ist. Selbst bei der N(on)O(besen)D(iabetischen)-Maus, auch ein Modell für den Typ-1-Diabetes, wurden diabetogene Gene kartiert und analog kongene NOD-Linien etabliert, um den in vivo-Effekt dieser Gene zu prüfen. Eine drastische Senkung der Diabetesinzidenz wurde durch Austausch eines diabetogenen chromosomalen Bereiches wie bei BB.6S bis dato nicht beschrieben. Eine ähnlich deutliche Senkung der Diabetesinzidenz wie bei BB.6S wurde nur durch Austausch von 2 und mehr chromosomalen Regionen der NOD durch die diabetes-resistenten Stämme erreicht (25-28).

Unterschiede zwischen BB/OK- und BB.6S-Ratten wurden auch beim Manifestationsalter und bei den Lymphozytenphänotypen nachgewiesen. BB.6S-Ratten manifestieren signifikant später ( $137 \pm 14$  vs.  $103 \pm 30$  Tage,  $p<0,001$ ) und haben signifikant weniger aktivierte T-Lymphozyten als BB/OK-Ratten ( $36,6 \pm 6,9$  vs.  $65,6 \pm 18,4$  %,  $p<0,0001$ ) (24). Darüber hinaus werden BB.6S-Ratten signifikant schwerer und haben signifikant höhere Serumcholesterolwerte als BB/OK-Ratten (24).

Da auch bei der SHR-Ratte immunologische Phänomene beschrieben wurden (29-31), wurde die drastische Senkung der Diabetesinzidenz von 86% bei BB/OK auf 14% bei BB.6S zunächst in der Weise interpretiert, daß in der transferierten Region ein SHR-Gen oder SHR-Gene lokalisiert ist/sind, dessen/deren Produkt/e die

Autoaggression der diabetogenen Genprodukte der BB-Ratte weitgehend „neutralisieren“ kann/können. Diese Annahme wurde durch die Etablierung einer weiteren kongenen BB/OK-Rattenline unterstrichen.

Neben diabetesresistenten SHR-Ratten wurden auch Wildfangratten zur Erzeugung von kongenen BB.K(arlsburg)W(ild)R(atte)-Ratten verwendet. Analog der BB.6S-Linie wurde der gleiche chromosomal Bereich der BB/OK von 15 cM durch den von Wildfangtieren ausgetauscht (BB.6W). Die Erkrankungshäufigkeit in dieser kongenen BB.6W-Linie ist mit der der BB/OK-Ratte vergleichbar (89% vs. 86%, 32). Daher wird erfindungsgemäß davon ausgegangen, daß die Diabetes-Protektion bei BB.6S das Ergebnis einer „neutralisierenden“ Genwirkung der SHR-Ratte und nicht dem Ersatz von Iddm4 der BB/OK-Ratte anzulasten ist.

Die Identifikation der/des Gene/s war somit angezeigt, denn mit der Identifikation des/der Gens/Gene ist die Möglichkeit verbunden, eine genspezifische Behandlung und/oder Prävention des Typ-1-Diabetes bzw. von Autoimmunerkrankungen per se vornehmen zu können.

#### Fortführende Arbeiten zur Identifikation des/der diabetesprotektiven Gens/Gene

Nach der Entschlüsselung des menschlichen Genoms (ca. 40.000 Gene) geht man heute davon aus, daß etwa 15-20 Gene pro cM und nicht wie bisher angenommen 50 Gene lokalisiert sind. Ausgehend von dieser Annahme sollten in dem transferierten chromosomal Bereich der BB.6S-Ratte von ca. 15 cM etwa 225-300 Gene kartieren. Angesichts dieser Zahl ist die Identifikation von möglichen Kandidatengenen für eine Diabetesprotektion ein aussichtsloses Unterfangen, weshalb subkongene BB.6S-Ratten

erzeugt wurden, um den chromosomalen Bereich mit der diabetesprotektiven Wirkung weiterhin einzugrenzen.

BB.6S-Ratten wurden mit diabetischen BB/OK-Ratten gekreuzt. Die resultierenden F1-Hybriden für den Bereich auf Chromosom 6 wurden untereinander gepaart (intercross) und genetisch analysiert, wobei das Markerspektrum erweitert wurde, um möglichst Rekombinationen in kleinen Bereiche erkennen zu können: D6Rat3-D6Rat1-D6wox13-D6Rat101-Ighe/Ckb-D6Mgh2-D6Rat94-D6Rat183-D6Rat10-D6Rat7-D6Rat75-D6Rat9-D6Rat6-D6Rat160-D6Mgh9-D6Rat184.

Die Zuordnung der Linien mit Diabetesprotektion erfolgte nach der Erkrankungshäufigkeit. Erkrankten bereits mehr als 50% der Nachkommen einer subkongenen Linie vor dem 100. Lebenstag, sprach dieser Phänotyp für den der BB/OK-Ratte und die Linie wurde eliminiert. Erkrankten weniger als 15% bis zum 100. Lebenstag, zeigte diese Linie den Phänotyp von BB.6S. Diese Linien wurden für die Weiterzucht zwecks Minimierung der Diabetesprotektiven Region eingesetzt. Durch die Etablierung verschiedener subkongener Linien (BB.6Sa,b,c..) mit dem Phänotyp der BB.6S-Ratte, wurde der in Frage kommende chromosomal Bereich auf < 2 cM (30-40 Gene) eingegrenzt.

Wie nachfolgend dargestellt, kartiert das diabetesprotektive Gen um den Locus D6Mgh2.

Tabelle 1:

cM		BB.6S	BB.6a	BB.6b	BB.6c	BB.6d	BB.6e	BB.6f
	D6Mgh4	BB						
2.1	D6Rat13	BB						
4.4								
	D6Wox5	BB						
1.5	D6Rat66	BB						
2.0	D6Rat184/D6M gh9	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
0.8	D6Rat160	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
1.3	D6Rat6	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
	D6Rat9	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
0.4	D6Rat75	SHR						
0.4	D6Rat7	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
2.1	D6Rat10	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
1.6	D6Rat183	SHR	BB	SHR	BB	BB	BB	SHR
0.4	D6Rat94	SHR	BB	SHR	BB	BB	BB	SHR
1.9	D6Mgh2	SHR	SHR	SHR	BB	BB	BB	SHR
	Ighe	SHR	SHR	BB	SHR	SHR	SHR	SHR
1.7	Ckb/D6Rat101	SHR	SHR	BB	SHR	SHR	BB	SHR
1.0	D6Rat1	SHR	SHR	BB	BB	BB	SHR	BB
1.9	D6Rat3	SHR	SHR	BB	BB	SHR	SHR	BB
	Diabetesin- zidenz	15%	10%	22%	>50%	>50%	>50%	14%

Der Locus D6Mgh2 ist ein Mikrosatellit im Ef1-Gen. Ef1 ist ein Pseudogen und kartiert beim Menschen auf Chromosom 14q32 und bei der Maus auf Chromosom 12q14. Nach Angaben der Chromosomenkarte von Watanabe et al. (33) soll auf Chromosom 6q32 der Ratte auch das Gen Macs kartieren (<http://ratmap.ims.u-tokyo.ac.jp>). Dieses Gen ist aber beim Menschen auf Chromosom

6q21-6q22.2 und nicht auf 14q32 lokalisiert worden. Falls dies zutreffen würde, bedeutet es, daß 6q32 der Ratte sowohl homolog zum humanen Chromosom 14q32, als auch 6q21-6q22.2 sein kann. Zwecks Kandidatengensuche war es notwendig, abzuklären, ob Macs tatsächlich auf dem Rattenchromosom 6q32 kartiert. Durch einen Polymorphismus im Macs-Gen (zwischen 901 und 1321, KWR hat 1 Aminosäure mehr) zwischen BB/OK und Wildfangtieren (KWR) wurden die Sequenzen zwischen BB/OK, KWR und BB.KWR (Chr. 6; BB.6W) verglichen. Alle BB.6W-Tiere zeigten den Genotyp der BB/OK-Ratte. Dadurch konnte ausgeschlossen werden, daß Macs auf Chromosom 6q32 der Ratte lokalisiert ist und damit ein Kartierungsfehler vorliegt. Dadurch konnte die Kandidatengensuche durch Homologievergleiche auf 12q13 der Maus und 14q32 des Menschen beschränkt werden.

Da im diabetesprotektivem Bereich auch das Gen Akt1/Pkb kartiert, welches essentiell für die  $\beta$ -Zellfunktion ist (34, 35), wurde zunächst versucht, Akt1/Pkb relativ genau in der Region zu positionieren. Da BB/OK und SHR polymorph sind (Intron zwischen 1321 und 1561), konnte mit Hilfe der subkongenen BB.6S-Linien Akt1/PKB zwischen Ighe und Ckb, also außerhalb der diabetesprotektiven Region, kartiert werden. Damit schied dieses Gen als möglicher Kandidat aus.

Durch die parallel laufende in vivo-Charakterisierung der BB.6S-Ratten im Vergleich zum Parentalstamm BB/OK wurden weitere Erkenntnisse zur Funktion des möglichen Kandidatengens gewonnen:

1. Morphologische Untersuchungen des Pankreas von normoglykämischen BB/OK- und BB.6S-Ratten zeigten signifikante Unterschiede auf. Im Alter von 30 Tagen waren bei BB.6S signifikant mehr Langerhanssche Inseln mit Lymphozyten infiltriert

(Insulitis) als bei BB/OK. Bei jeweils 12 untersuchten BB.6S bzw. BB/OK waren  $51,2 \pm 4,6\%$  bzw.  $7,5 \pm 2,5\%$  ( $p<0,001$ ) der Inseln infiltriert. Im Alter von 90 Tagen war der Prozentsatz an Inseln mit Insulitis zwischen beiden Stämmen vergleichbar und lag bei etwa 50% (37). Demnach tritt sowohl bei BB/OK als auch bei BB.6S eine Insulitis auf, die bei BB/OK bei etwa 86% der Tiere und bei BB.6S nur bei etwa 14% zur Zerstörung der Beta-Zellen und damit zum Typ-1-Diabetes führt, was für die Induktion einer Immuntoleranz bei BB.6S sprechen könnte.

Signifikante Unterschiede fanden sich auch zwischen frisch-manifestierten, diabetischen BB/OK und BB.6S im Insulingehalt und Prozentsatz Insulin-positiver  $\beta$ -Zellen. Im Vergleich zu diabetischen BB/OK war der Insulingehalt ( $0,15 \pm 0,03$  vs.  $0,42 \pm 0,13$  pmol/mg,  $p<0,05$ ) und der Prozentsatz Insulin-positiver  $\beta$ -Zellen ( $0,07 \pm 0,02$  vs.  $0,19 \pm 0,06\%$ ,  $p<0,05$ ) signifikant niedriger als bei diabetischen BB.6S, was dafür sprechen könnte, daß die Zerstörung der Insulinproduzierenden  $\beta$ -Zellen nicht so aggressiv wie bei BB/OK-Ratten abläuft (37).

2. Untersuchungen zur Frakturheilung bei BB/OK- und diabetesresistenten LEW.1A-Ratten (38) zeigten, daß der Knochen der BB/OK-Ratte deutlich brüchiger als der von LEW.1A-Ratten war, was auf eine mögliche Störung im Calcium-Stoffwechsel der BB/OK hinwies. Verschiedene Untersuchungen zum Calcium-Stoffwechsel ergaben allein signifikante Unterschiede im Serumcalcitonin gehalt zwischen BB/OK und BB.6S-Ratten. Signifikant höhere Calcitoninwerte wurden bei BB/OK als bei BB.6S nachgewiesen ( $2,4 \pm 1,57$  vs.  $1,0 \pm 0,65$  pmol/ml;  $p=0,0002$ ). Da Calcitonin nicht nur die Calcium-Freisetzung des Knochens hemmt, sondern ebenso über verschiedene Protei-

ne und Rezeptoren die Insulinsekretion hemmen kann (39,40), wurde versucht, durch Modulation der Calcium-Zufuhr über die Nahrung von BB/OK und BB.6S einen weiteren Hinweis zum Zusammenspiel von Calcium (Ca) und Diabetesmanifestation zu erhalten.

BB/OK und BB.6S-Ratten wurden mit Standarddiät (0,8% Ca), mit Ca-reicher (2%) und Ca-armen Diät (0,4%) ernährt und bis zur 30. Lebenswoche auf Diabetesentwicklung beobachtet. Während bei BB/OK-Ratten kein Einfluß der Diät auf die Erkrankungshäufigkeit nachweisbar war (Kontrolle=88%; Ca-arm=92%; Ca-reich=90%), erkrankten bei BB.6S-Ratten signifikant mehr Tiere an einem Diabetes, wenn sie mit Ca-reicher Diät ernährt wurden (Kontrolle=12%; Ca-arm=18%; Ca-reich= 45%, p=0.02). Darüber hinaus führte die Ca-reiche Ernährung zur Angleichung der Körpermasse und des Serumcholesterolgehaltes bei BB/OK und BB.6S. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Linien traten bis zur 30. Lebenswoche nicht auf. Weitere in vivo-Manipulationen, wie Verabreichung von Ca-Kanal-Blockern oder verschiedenen Ca-Antagonisten, ergab keinerlei in vivo-Effekte.

3. In vitro Untersuchungen an isolierten Langerhansschen Inseln von BB/OK- und BB.6S- Ratten zeigten, daß durch Variation der Ca-Konzentration im Kulturmedium weder der Insulingehalt, noch die glukosestimulierte Insulinsekretion zwischen beiden Linien differierte.

Signifikante Unterschiede fanden sich jedoch bei der Proteinexpression mittels Westernblottanalyse. Das Ca-bindende Protein, Calbindin-D28k, war in Inseln von BB.6S-Ratten bereits unter Basalbedingungen doppelt so hoch wie das von BB/OK-Ratten. Zunehmende Ca-Konzentration im Medium erhöhte

deutlich die Proteinexpression von Calbindin-D28k bei BB.6S-Inseln während die Expression bei BB/OK-Ratten durch Ca fast unbeeinflußt blieb. Calbindin-D28k ist ein cytosolisches Ca-bindendes Protein, welches bevorzugt in der Niere, aber auch im Pankreas und Gehirn exprimiert wird und den apoptotischen (gengesteuerten) Zelltod verhindern kann (41,42). Funktional wird vermutet, daß Calbindin-D28k bei der Regulation der Ca-Reabsorption beteiligt ist.

Da das Kandidatengen

1. die zwei essentiellen diabetogenen Gene, Iddm1 und Iddm2, nahezu ausschalten kann,
2. bei der Immuntoleranz und beim apoptotischen Zelltod,
3. als auch bei der Regulation von Ca, Ca-bindenden Proteinen (Calbindin-D28k u.a.) und Hormonen (Calcitonin, u.a.),
4. bei der Entstehung einer Dyslipidämie involviert ist,

wurde der Schluß gezogen, daß das Gen ein multifunktioneller Transkriptionsfaktor ist.

Das Kandidatengen

Nach Homologievergleichen und Genfunktionsprüfungen wurde der Transkriptionsfaktor Yin Yang-1 (YY1), der mit hoher Wahrscheinlichkeit in der diabetesprotektiven Region bei Mensch und Maus kartiert, im Rahmen der vorliegenden Erfindung als Kandidatengen favorisiert, denn er kann die Transkription einer großen Anzahl von zellulären und viralen Genen aktivieren,

aber auch hemmen bzw. kann selbst Transkription initiieren und entspricht damit einem multifunktionellem Transkriptionsfaktor.

YY1 gehört zu der Klasse der regulatorischen Transkriptionsfaktoren (RTF), d.h. die Bindung erfolgt sequenzspezifisch an proximale und distale Regulationselemente der DNA. Darüber hinaus besitzt er die Fähigkeit, direkt oder indirekt einen Einfluß auf die Transkriptionsmaschinerie zu nehmen. Durch seinen vielseitigen molekularen Strukturaufbau (Aktivierungsdomäne, Repressionsdomäne, Zinkfingerstrukturen) ist es ihm möglich, eine differentielle Genaktivität durchzuführen. Das heißt, er kann als zeitlicher, räumlicher, zellspezifischer, organspezifischer oder signalvermittelnder Parameter fungieren. Seine Funktionsmodule erfüllen die Aufgaben der spezifischen DNA-Erkennung, der Transkriptionsaktivierung, Transkriptionsrepression, aber auch die Interaktion mit anderen Proteinen.

#### **Genaufbau - Vergleich**

Das Protein von Yin Yang ist gekennzeichnet durch die lokale Anhäufung von Asparaginsäure (D) und Glutaminsäure (E) zwischen den AS-bereichen 43 bis 53. Der Abschnitt ist homolog zw. Ratte und Mensch, jedoch unterscheidet sich die Anzahl und die Position von E und D voneinander. Die Ratte besitzt 5 x E und 6 x D, wobei der Mensch über 6 x E und 5 x D verfügt. Daran schließt sich ein Histidin-Cluster bei der Ratte von 54 bis 79 und beim Menschen von 54 bis 82 an. Es fehlen 3 Histidine bei der Ratte gegenüber der humanen Sequenz. Es folgt eine GA/GK reiche Domäne von 154 bis 198 beim Menschen. Bei der Ratte ist dieser Positionsreich um 3 AS-Positionen in Richtung N-terminales Ende versetzt. (151-195). Die vier Zinkfinger der hu-

manen Sequenz beginnen an Position 298 und enden an Position 407. In der Rattensequenz erstreckt sich dieser Bereich von 295 bis 404. Die gesamte AS-Länge beträgt beim Menschen 414 und bei der Ratte 411 AS (s. Sequenzprotokoll: SEQ ID NO:2 und 4; die Bezeichnung "SEQ ID NO:" entspricht hier und im folgenden der Sequenzkennzahl "<400>" nach WIPO Standard ST.25).

#### **Funktionelle Domänen**

Viele Forschergruppen haben die Struktur und Funktion von YY1 mit Hilfe von Deletionsmutanten, sowie mit Reporterkonstrukten analysiert. Diese Ergebnisse sind in Fig. 1 zusammengefaßt.

Übereinstimmend wurden zwei Aktivierungsdomänen gefunden. Sie sind im Bereich des N-terminalen Endes und in der Region des Zinkfingers lokalisiert. Darüber hinaus konnten von zwei Gruppen weitere Domänen mit aktivierender Funktion in der Nähe des C-Terminus lokalisiert werden (397-414 und 370-397) (43,44). Man argumentierte die Maskierung der N-terminalen Aktivierungsdomäne durch die C-terminale Domäne, sowie daß bei Deletion der C-terminalen Domäne die N-terminalen Domäne demaskiert wird, so daß YY1 als konstitutiver Aktivator agieren kann. Diese Ergebnisse führten zu dem Schluß, daß nur unter bestimmten Bedingungen YY1 zum Aktivator wird. Es zeigte sich, daß das E1A in der Lage war, Yin Yang in einen Aktivator umzuwandeln (43).

Repressionsdomänen konnten für den Zinkfingerbereich lokalisiert werden. Dabei werden dem Zinkfinger 1 und 2 die Repressionsaktivität zugesprochen, wobei Zinkfinger 2 und 3 für die DNA-Bindung zuständig sein sollen (45). Bei Betrachtung der Röntgen-Cokristallstruktur von Zinkfinger 2 und 3 stellte man

im Gegensatz dazu fest, daß diese in der Lage waren, an den Basen, sowie an das Phosphatrückgrat der DNA anzugreifen (46). Für den Zinkfinger 1 konnten Kontaktstellen nur für das Phosphatrückgrat und für Zinkfinger 4 nur für einige wenige Basen gezeigt werden.

Weitere Repressionsdomänen zeigten sich überlappend mit der Aktivierungsdomäne an den Positionen von 1 bis 201, sowie von 170 bis 200 (47, 48).

Die Interpretation dieser Ergebnisse von Thomas et al. (49) zeigten zusammenfassend, daß sich nur zwei Repressionsdomänen im YY1 Gen befinden, im Bereich von 170 bis 200 und in der Zinkfingerregion, die vielleicht zusammen interagieren können (vgl. Fig. 1).

#### Protein/Protein Interaktionen

Yin Yang ist imstande, mit Proteinen, wie Transkriptionsfaktoren und Coaktivatoren/Corepressoren zu interagieren. Zwei Domänen, die interagieren sind die Bereiche um 150 bis 170 (zentrale Domäne), in denen die GA/GK reiche Domäne mit Teilstücken des Spacers, sowie die C-terminale Region und die Zinkfinger mit Teilen des Spacers lokalisiert sind.

Einige Proteine, wie TBP, CBP/p300, TFIIB, E1A und c-MYC können an beide Regionen binden (43, 45, 47, 50, 51). Proteine, die nur mit einer dieser zwei Domänen interagieren können, sind: HDAC2 (zentrale Domäne), SP1 und ATF/CREB (C-terminale Domäne) (45, 48, 52-54) (vgl. Fig. 2).

Galvin and Shi demonstrieren (45), daß die Repression von CREB und SP1 durch YY1 aktivator-spezifisch ist. Die Autoren postulierten, daß YY1 die Target (s) der Aktivatoren interfeiert, anstelle von direkter Bindung zu diesen zwei Faktoren.

Nur ein Protein, E1A, wurde bisher gefunden, welches direkt mit der Aktivierungsdomäne von YY1 interagiert (43,47,55). Seit dieser Entdeckung wird diskutiert, ob YY1 seine Repressorfunktion in Richtung Aktivator auch verändern kann, möglicherweise durch Maskierung seiner Repressionsdomänen über Modifizierung, oder aber über Freilegung seiner Aktivierungsdomäne.

#### **Promotorbindung**

Ausgezeichnet durch vier Cys2-His2-Zinkfinger ist Yin Yang in der Lage, entweder die Transkription zu aktivieren oder zu inhibieren, was jedoch von der Promotorsequenz der Gene und von der Konzentration des YY abhängig ist. Die Consensus-Sequenz (C/t/a)CATN(T/a)(T/g/c), die in vielen Promotoren von viralen und zellulären Genen zu finden ist, kann über den Zinkfinger gebunden werden (56).

#### **Repressionsmodelle**

Neben der geregelten Aktivierung der Transkription stellt auch dessen Repression einen wichtigen Kontrollmechanismus der Genaktivität dar. Repression durch Umkehrung bzw. Aufhebung genaktivierender Prozesse kann durch YY1 bewirkt werden. Im YY1-Genabschnitt wurden mehrere Repressionsbereiche gefunden (siehe Fig. 3).

Drei Modelle der Repressoraktivität sind bis zum heutigen Stand bekannt. Im ersten Modell deplaziert YY1 den Aktivator.

Störende Eigenschaften weist er im zweiten Modell auf. Er behindert den Aktivator, sowie die generellen Transkriptionsfaktoren (GTF) in der Ausübung ihrer Funktion.

Eine indirekte Repression (Drittes Modell) führt YY1 über die Rekrutierung von Corepressoren aus. Er nimmt indirekten Einfluß auf die Chromatinstruktur (49). Von besonderem Interesse sind dabei die HDAC 1, 2 und 3, als Corepressoren. HDAC's stehen im Zusammenhang mit Auflockerung der Chromatinstruktur. Alle drei Proteine sind globale Regulatoren der RPD3, d.h. sie sind in der Lage, Histone zu deacetylieren (in vitro). Außerdem können die HDAC bei Dirigation zum Promotor direkt die Transkription blockieren (48, 57-60). Bei Überexpression von HDAC 2 konnte durch die Gruppe Yang et al. (48) gezeigt werden, daß die Repressionsfunktion von YY1 verstärkt wird. Durch die Entdeckung, daß HDAC 2 im Komplex mit HDAC 1 arbeitet, muß das gleiche auch für HDAC 1 gelten.

### **Aktivierungsmodelle**

Drei Modelle sind bekannt, wie Yin Yang die Transkription aktiviert (siehe Fig. 4). Direkte Aktivierung konnte mit Hilfe des Adenovirus Protein E1A von der Gruppe Shi et al (61) gezeigt werden. Stimulation der Transkription wird erreicht durch die direkte Interaktion YY1 mit den GTF: TAFII55, TBP und TFIIB (62,63). Der zweite Mechanismus konnte am AAV P5 Initiator Element aufgeklärt werden (64). Darüber hinaus wird diskutiert, ob YY1 eine strukturelle Veränderung durchmacht, wenn er mit anderen Proteinen interagiert. Im dritten Modell rekrutiert Yin Yang Coaktivatoren, die mit anderen Transkriptionsfaktoren interagieren. Dieses Modell beinhaltet vielleicht auch die Modifikation des Chromatin durch p300. Durch die Auflockerung der Chromatinstruktur mittels p300 (HAT-

Aktivität), wäre der Zugang zur DNA erleichtert und eine effiziente Bindung möglich (51,55,65).

#### **Regulation von YY1 durch Acetylierung und Deacetylierung:**

Die Regulation des Transkriptionsfaktors erfolgt auf der post-translationalen Ebene durch die Interaktion mit anderen Proteinen.

Die Transkriptionsaktivatoraktivität von YY1 ist direkt abhängig von der Assoziation zu den Coaktivatoren p300, CBP, sowie PCAF. Diese Coaktivatoren besitzen Histon-Acetyltransferase (HAT) und sind somit befähigt, Acetylgruppen zu transferieren. Im Gegensatz dazu ist die Repressionsaktivität von YY1 assoziiert mit der Histon-Deacetylase2 (HDAC2) im Bereich 170-200 der Repressionsdomäne.

Die selektive Assoziation von YY1 mit HAT oder HDAC entscheidet darüber, ob er als Aktivator oder Repressor fungiert.

#### **Acetylierung und Deacetylierung durch p300, PCAF und DHAC:**

Yin Yang verfügt über 2 Acetylierungsdomänen. Die erste liegt im Bereich zwischen 170 bis 200, die Zweite überlappt den Zinkfingerbereich am C-terminalen Ende zwischen 261-414.

Die Acetylierungen im Bereich 170 bis 200 werden durch p300 und PCAF an den Lysin- Resten durchgeführt. Sechs Paare an Lysinen befinden sich in der ersten Domäne, wobei aber nur 3 verschiedene Lysine durch p300 und PCAF acetyliert werden. Um eine maximale Repressionsaktivität zu erhalten, muß YY1 an allen drei Stellen acetyliert werden. Würde nur ein Lysin durch ein Arginin ersetzt werden, wäre keine maximale Repressionsak-

tivität mehr gewährleistet, aufgrund der eintretenden Konformationsveränderung.

Ein weiterer, entscheidender Punkt der Acetylierung zwischen 170 bis 200 ist, daß sich die Bindungswahrscheinlichkeit von DHAC signifikant erhöht und somit in diesem Bereich auch eine Deacetylierung durch HDAC 1,2 erfolgen kann.

Erstaunlicherweise ist es HDAC auch möglich, in dem zweiten Acetylierungsbereich (261-333) zu binden. Im Gegensatz zur ersten Acetylierungsdomäne findet hier jedoch keine Deacetylierung statt.

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß sich durch die Acetylierung von PCAF im überlappenden Bereich des Zinkfingers (261-333) die DNA-Bindungsaktivität von YY1 erniedrigt (66).

#### Feinkartierung von YY1

Da die Sequenz der Ratte bis Dezember 2002 noch nicht in der Genbank vorhanden war, wurde erfindungsgemäß die Gensequenz der Maus benutzt, um Primer zu rekrutieren, denn die erste Aufgabe bestand in der Feinkartierung von YY1. Es mußte sichergestellt werden, daß das Gen tatsächlich im diabetesprotektiven Bereich liegt.

Da die Chance, im Intron einen Polymorphismus zu finden, recht groß ist, wurden Primer zur Amplifikation der Introns verwendet (vgl. Fig. 11; Intron 1: K828-F/K829-R; Intron 2: K830-F/K832-R; Intron 3: K831-F/K833-R; Intron 4: K815-F/K817-R; K815-F/K875; K821-F/K817-R; K821-F/K870-R; K874-F/K870-R). Es wurde nur ein sequenzierbares Genprodukt mit genomischer DNA vom Intron 4 erhalten. Das Intron hat 633 Basenpaare (bp) und

unterscheidet sich zwischen BB- und SHR-Ratten an den Positionen 323 (t-a), 502 (g-c) und 528 (a-c). Zur genauen Positionierung von YY1 auf Chromosom 6q32 wurde dieser Polymorphismus unter Verwendung der subkongenen BB.6S-Linien benutzt. YY1 wurde zwischen D6Mgh2 und Ighe kartiert und befindet sich somit im diabetesprotektiven Bereich.

Um zu prüfen, ob der Polymorphismus im Intron 4 auch bei anderen Stämmen vorkommt oder weitere Unterschiede auftreten können, wurde das Intron 4 von folgenden Ratten sequenziert und verglichen: 2 Wildfangtiere (Wildtyp, M+W), jeweils 1 Tier von diabetes-resistanten, ingezüchteten DA/K, BN/Mol, LEW/K und WOKW-Ratten.

WOKW-Ratten entwickeln keine Hyperglykämie (=Diabetes), aber ein komplettes metabolisches Syndrom (Fettsucht, Hyperinsulinämie, Dyslipidämie, gestörte Glukosetoleranz, Hypertonie) und stammen wie BB/OK-Ratten aus der gleichen Wistaratten-Auszuchtpopulation der BioBreeding Laboratories, Ottawa, Canada (67,68).

Im Ergebnis zeigte sich, daß die Intronsequenz zwischen BB/OK und Wildfangtieren, sowie zwischen SHR und DA, BN, LEW.1W, als auch WOKW identisch ist.

#### Sequenzierung von YY1

Sowohl genomische als auch cDNA wurde mittels PCR unter Verwendung verschiedener Primer so amplifiziert, daß überlappende Genprodukte zur Sequenzierung zur Verfügung standen (vgl. Fig. 11; Promotor: K823-F/K825-R\*; Promotor und Exon 1: K884-F/K806-R; Exon 1: K801-F/K804-R; K814-F/K832-R\*; Exon 2 und 3: K828-F/K833-R; K831-F/K817-R; Exon 4: K815-F/K870-R; K815-

F/K818-R; K816-F/K819-R; K834-F/K836-R). Die PCR und Sequenzierung wurden wie im Material & Methoden-Teil (M&M) beschrieben durchgeführt.

Das YY1-Gen der Ratte umfaßt 1236 Basenpaare (bp) und besteht aus 411 Aminosäuren (AS), was von Nishiyama et al. 2003 bestätigt wurde (69). Sequenzunterschiede zwischen BB/OK und SHR bzw. BB.6S wurden an Position 603 (c-t), 980 (t-g) und 1004 (g-a) nachgewiesen (vgl. SEQ ID NO:1 und 3). Dieser Basenaustausch führt zur Änderung der Aminosäuren an Position 303 und 311 im Zinkfingerbereich (vgl. SEQ ID NO:2 und 4). Bei BB/OK-Ratten kodieren die AS Methionin (Nukleotide 907-910 ab Startcodon) und Arginin (Nukleotide 931-933 ab Startcodon) und bei SHR-Ratten die AS Arginin und Lysin.

Der Promotorbereich wurde nur teilweise vom Transkriptionsstart (-72) sequenziert, wobei noch ein Bereich von 470 bp mit der GC-Box vorliegt. Unterschiede zwischen BB/OK und SHR waren nicht nachweisbar.

Nach Sequenzvergleichen mit der Maus sollte der Promotorbereich ca. 891 bp vom Transkriptionsstart entfernt sein (Acc: L13969, 1-464, 86% Homologie). Beim Vergleich mit der Humansequenz (Acc: AF047455 Promotor in dieser Sequenz nur -42bp) waren Übereinstimmungen zwischen -636 bis -585 (216-269; 47/54; 87% Übereinstimmung) und -464 bis -392 (392-464; 64/73; 87%) Basen vom Transkriptionsstart zu finden.

#### **Sequenzvergleich der Nukleinsäure und des Proteins zwischen Ratte und Mensch**

Der Sequenzvergleich zwischen BB/OK-, SHR-Ratte und Mensch, wie in Fig. 9 und 10 zusammengestellt, zeigten eine bp-

Übereinstimmung von 95,6% bzw. 95,3% und die AS von 96,9 bzw. 96,4%. Berücksichtigt man die Tatsache, daß der Ratte 3 AS fehlen (3 Histidine, 1 x zwischen Aktivierungs- und erster Repressionsdomäne, Position 66 beim Menschen und 2 in der ersten Repressionsdomäne, statt 12 Histidinen hat die Ratte nur 10), erhöht sich die Übereinstimmung im codierenden Bereich zwischen Ratte und Mensch bei den bp auf 97,0 (1206/1239) bzw. 96,8% (1200/1239) und bei den AS auf 97,6% (401/411) bzw. 97,1% (399/411). Im Zinkfinger, der 330 bp und 110 AS umfaßt, stimmen bei der BB/OK-Ratte 99% der bp (327/330) und AS (109/110) und bei SHR-Ratten 98% der bp (325/330) und 97,3% (107/110) der AS überein.

#### Genexpressionsstudien

Um zu prüfen, inwieweit die Sequenzunterschiede eine Auswirkung auf die Genexpression von YY1 haben, wurden Genexpressionsstudien durchgeführt.

Es wurde mRNA aus isolierten Langerhansschen Inseln, Pankreas, Leber, Gehirn, Thymus und Milz von 8 Tage alten Ratten der Inzuchtstämme BB/OK, SHR, BB.6S und LEW („unbelastete“ Kontrolle) gewonnen, in ssDNA umgeschrieben und für die Genexpressionsstudien eingesetzt (vgl. Material&Methoden-Teil).

Es wurde wiederholt gezeigt, daß der YY1-Zinkfingerbereich unter Verwendung der Primer K831-F/K818-R und K831-F/K870-R in isolierten Langerhansschen Inseln der BB/OK-Ratte bzw. LEW-Ratte stark (YY1-Zinkfinger/GPDH-Intensität = 0.19 ± 0.04) und signifikant erniedrigt in den von SHR- und BB.6S-Ratten exprimiert ist (YY1-Zinkfinger/GPDH-Intensität = 0.03 ± 0.02; p<0.001). Im Pankreas zeigte sich ein ähnlicher Expressionsunterschied, jedoch etwas abgeschwächt. Die Untersuchung der Ex-

pression unter Verwendung der Primer K831-F und K870-R zeigte, daß im Pankreas, der Leber und im Gehirn bei BB.6S-Ratten eine zweite, um ca. 150 bp kürzere Bande auftrat, die weder bei BB/OK noch bei SHR und LEW zu beobachten war. Interessant war auch die Tatsache, daß Geschlechtsunterschiede in der Genexpression auftraten. Die Expression bei männlichen Tieren war stets stärker als bei Weibchen. In allen anderen untersuchten Organen wird YY1 exprimiert. Augenfällige Unterschiede zwischen den Stämmen, außer zwischen männlichen und weiblichen Tieren, wurden nicht beobachtet.

#### **Sequenzierung der zweiten Bande bei BB.6S**

Da eine zweite Bande nur bei BB.6S-Ratten im Pankreas, in der Leber und im Gehirn auftrat, wurde diese zweite Bande eluiert, amplifiziert und sequenziert (vgl. M&M). Im Ergebnis zeigte sich, daß diese Bande eine verkürzte Zinkfingersequenz ist (vgl. Fig. 12 und SEQ ID NO:7). Danach fehlt ein Teil vom Zinkfinger 1, und Zinkfinger 2 fehlt vollständig (967 bis 1125; vgl. SEQ ID NO:8).

#### **Schlußfolgerungen**

Da gezeigt werden konnte, daß

1. YY1 als multifunktioneller Transkriptionsfaktor im diabete-sprotektivem Bereich kartiert,
2. Sequenzunterschiede mit Änderung der AS zwischen BB/OK und SHR im Zinkfingerbereich (AS an Position 303 - Methionin/Arginin und 311 Arginin/Lysin sind different) und im Intron 4, das im Zinkfinger liegt, nachweisbar sind,

3. bei BB/OK-Ratten YY1 in isolierten Langerhansschen Inseln und Pankreas deutlich und bei SHR- und BB.6S-Ratten kaum, in den anderen untersuchten Organen jedoch vergleichbar, aber mit 2 Banden bei BB.6S nach Amplifizierung des Zinkfingerbereiches exprimiert ist,

wurde der Schluß gezogen, daß YY1 bei BB.6S in Langerhansschen Inseln unterexprimiert ist und damit diabetesprotektiv wirkt, wobei die zweite Bande im Pankreas und anderen Geweben ebenfalls für die Diabetesprotektion von Bedeutung ist, zumal dem Zinkfinger 2 eine besondere Rolle bei der Transkription zugesprochen wird. Eine Beobachtung, die durch die AS-Änderung im Zinkfingerbereich und/oder im Intron (unterschiedliches Spleißverhalten bei BB/OK und BB.6S) verursacht ist.

Da die Änderung im Zinkfingerbereich eine diabetesprotektive Wirkung hat, sind mehrere Gene in ihrer Regulation/Aktivität beeinträchtigt/verändert. Für eine Beteiligung des Introns an der Diabetesprotektion spricht die Tatsache, daß die Sequenzunterschiede zwischen BB/OK und SHR nachweisbar waren, nicht aber zwischen BB/OK und Wildfangtieren. Die Sequenz zwischen BB/OK und Wildfangtieren war gleich. Dies wiederum erklärt, warum BB.6S-, nicht aber BB.6W-Ratten vor der Entwicklung eines Diabetes geschützt sind.

Infolge der erfindungsgemäß gewonnenen Erkenntnisse eröffnet die Modulation des multifunktionellen Transkriptionsfaktors YY1 auf Expressions- und Regulationsebene zum einen erstmals einen Weg, um Typ-1-Diabetes zu verhindern, zum anderen lassen sich durch diese Modulation auch Autoimmunerkrankungen als solche verhindern. Ferner lassen sich auch weitere Erkrankungen wie Krebs, AIDS, Fettstoffwechselstörungen und Hypertonie positiv beeinflussen.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher ein Protein, das die in SEQ ID NO:4 dargestellte Aminosäuresequenz aufweist. Ferner eingeschlossen sind Homologe des Proteins, die Arginin und an Position 311 Lysin aufweist. Der Homologiegrad beträgt mindestens 95%, vorzugsweise mindestens 97%, und besonders bevorzugt mindestens 99%.

Die Erfindung betrifft auch Peptide, die Fragmente eines vorgenannten Proteins sind und eine Aminosäuresequenz aufweisen, die den die Aminosäurepositionen 303 und 311 in SEQ ID NO:4 (bzw. 306 und 314 in SEQ ID NO:6) umfassenden Sequenzbereich enthält. Die Länge der erfindungsgemäßen Peptide beträgt beispielsweise 53 bis 315 Aminosäuren, vorzugsweise z.B. 315, 117 oder 53 Aminosäuren, wobei die Peptide vorzugsweise die Sequenzbereiche von Position 1 bis 315, von 295 bis 411 bzw. von 299 bis 351 umfassen.

Erfindungsgemäß sind ferner folgende Fragmente wichtig: Aminosäuren 165-214; 255-333; 255-411. Die Numerierung bezieht sich auf die Numerierung gemäß SEQ ID NO:4.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind auch Peptide von Bedeutung, die nur einen Bereich von z.B. Position 295-310 oder 305-320 (Numerierung bezogen auf SEQ ID NO:4) abdecken und somit nur eine der beiden mutierten Aminosäuren einschließen.

Die Erfindung betrifft ferner eine Nukleinsäure, die für ein vorgenanntes Protein oder Peptid kodiert. Die für das Protein mit der in SEQ ID NO:4 kodierende Nukleinsäure weist vorzugsweise die in SEQ ID NO:3 dargestellte Nukleinsäuresequenz auf. Eine für die vorgenannten Homologen kodierende Nukleinsäure

weist eine Nukleinsäuresequenz auf, die den die Nukleinsäurepositionen 979-981 und 1003-1005 in SEQ ID NO:3 umfassenden Sequenzbereich enthält. Die Codons an den genannten Positionen können selbstverständlich infolge der Degeneration des genetischen Codes variieren, solange sie für die Aminosäuren Arginin bzw. Lysin kodieren.

Erfindungsgemäß ist ferner die Intronsequenz wichtig: 1126-1758. (Die Lage der Exons in SEQ ID NO:3 ist: Exon 1:73 bis 729; Exon 2: 730 bis 825; Exon 3: 826 bis 978; Exon 4: 979 bis 1125; Exon 5: 1759 bis 1938; siehe Sequenprotokoll.) Die Numerierung bezieht sich auf die Numerierung gemäß SEQ ID NO:3.

#### **Diabetes Mellitus Typ 1 und Autoimmunerkrankungen an sich**

Wie bereits erwähnt, resultiert Typ-1-Diabetes aus der selektiven Zerstörung der Insulin-produzierenden  $\beta$ -Zellen im Pankreas. Der Untergang der  $\beta$ -Zellen wird durch autoreaktive T-Zellen, die gegen  $\beta$ -Zell-spezifische Antigene (Autoantigene) gerichtet sind, gesteuert. Mit der Diabetesmanifestation verbunden ist eine Insulitis (69). Dieser Prozess ist gekennzeichnet durch die lymphozytäre Infiltration der  $\beta$ -Zelle. Da eine Insulitis nicht immer die Antwort auf eine  $\beta$ -Zelldestruktion sein muß, unterscheidet man zwischen einer benignen und destruktiven Insulitis (70). Dieser Prozeß korreliert mit der Cytokinproduktion, wie für Modelltiere (BB-Ratte) und für den Menschen gezeigt werden konnte (71-78). Dabei spielen die Cytokine IFN $\gamma$  und IFN $\alpha$  während der destruktiven Insulitis eine Hauptrolle. Für die benigne Insulitis werden IL10 und TGF $\beta$  als Hauptfaktoren angesehen. Darüber hinaus konnte in nicht-diabetischen Mäusen Insulitis durch TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ , sowie IL6 induziert werden, was jedoch nicht zu einer  $\beta$ -

Zellzerstörung führte. Bei transgener Expression von IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$  und IL2 konnte gezeigt werden, daß nicht-diabetische Mäuse eine Insulitis und einen autoimmunen Typ-1-Diabetes entwickeln. Demnach sind IFN $\gamma$ , IFN $\alpha$ , IL2 und IL10 bei der Entstehung, TNF $\alpha$ , IL4, IL6, sowie TGF $\beta$  bei der Verhinderung des Typ-1-Diabetes involviert (71-81).

Da alle BB.6S-Ratten eine Insulitis entwickeln, Diabetes aber nur bei etwa 15% der Tiere auftritt (82), muß YY1 auch beim Insulitisprozeß eine Rolle spielen. Entweder schaltet YY1 die protektiven Cytokine an, unterdrückt die pathogenen Cytokine oder er balanciert beide Cytokingruppen so, daß zum einen die  $\beta$ -zelldestruktive Insulitis auftritt oder aber die benigne Insulitis, die nicht zum autoimmunen Diabetes führt, zum Tragen kommt. Da er auch in der Lage ist, IL4 zu aktivieren (83) und IFN $\gamma$  zu inhibieren (84), wird erfindungsgemäß davon ausgegangen, daß er auch die Relation der T-Helferzellpopulationen, TH1 und TH2, zugunsten von TH2 verschiebt.

Ist durch eine Mutation die AS-Sequenz von YY1 bei Typ-1-Diabetikern verändert, kann er nicht mehr an bestimmte Sequenzen in der DNA binden, oder aber seine Affinität zur Bindungsstelle ist reduziert. D.h., er kann nicht mehr an den IFN $\gamma$ -Promotor binden, oder mit zu niedriger Affinität, und die IFN $\gamma$ -Synthese auch nicht mehr hemmen. Eine Überproduktion von IFN $\gamma$  wäre die Folge. Diese Überproduktion könnte dann zu einer Insulitis führen. Da IFN $\gamma$  die TH1 Antwort aktiviert, indem er die MHC-Klasse-I-Proteine auf der Oberfläche von  $\beta$ -Zellen hochreguliert (85,86) und sogleich die T-Zelldifferenzierung in Richtung TH1 beeinflußt und dadurch die TH2-Antwort reduziert, wäre eine Verschiebung zwischen TH1 und TH2 gegeben, wie es beim autoimmunen Diabetes postuliert wird. Darüber hinaus ist be-

kannt, daß Makrophagen zuerst in der  $\beta$ -Zelle nachweisbar sind. Da IFN $\gamma$  ein Stimulator für Makrophagen ist, kann die frühe Einwanderung in die  $\beta$ -Zelle dadurch erklärt werden, daß IFN $\gamma$  nicht mehr durch YY1 gehemmt wird. Zusätzlich ist YY1 auch prädestiniert, die IL4 Synthese einzuleiten (83). Ist dieser Fakt durch Sequenzveränderung oder Unterproduktion von YY1 auch nicht gegeben, kann die TH1-Antwort nicht mehr durch IL4 als protektives Cytokin unterdrückt werden. Aufgrund einer erhöhten Aktivität von TH1 können cytotoxische T-Zellen (CTL oder CD8 $^{+}$ ) und NK-Zellen ihre Funktion in der  $\beta$ -Zelle als „Killer Zellen“ wahrnehmen. Der apoptotische  $\beta$ -Zelltod, induziert durch FAS-Rezeptoren unter Interaktion mit dem FAS-Liganden, kann durch YY1 auch zusätzlich noch induziert werden (87). Ist der Transkriptionsfaktor bei Typ-1-Diabetikern mutiert, kann er nicht mehr in vollem Maße die FAS-Expression hemmen. Somit erscheint FAS auf der Oberfläche von  $\beta$ -Zellen, und die apoptotische Signalkaskade ist aktiviert. Das Resultat ist der  $\beta$ -Zelltod und damit Typ-1-Diabetes.

Da neonatale Thymektomie bei Modelltieren (BB-Ratte und NOD-Maus) die Entstehung eines Typ-1-Diabetes verhindert (88), wird u.a. auch vermutet, daß beim Typ-1-Diabetes autoreaktive T-Zellen schon während der T-Zelldifferenzierung entstehen. D.h., YY1 müßte schon in einem frühen Stadium der T-Zellentwicklung eingreifen, was man sich wie folgt vorstellen könnte:

Um ein funktionelles Lymphozytenrepertoire zu entwickeln, müssen die Vorläuferzellen, sogenannte Präthymozyten, verschiedenste Entwicklungsstadien im Thymus durchlaufen. Da nur etwa 2% reifer T-Zellen den Thymus verlassen können, liegt eine strenge Selektion während der T-Zellreifung vor, welche über

Tod oder Überleben entscheidet. Ein Regulationspunkt ist im frühen Thymozytenstadium, dem „Doppelt Negativen“ (DN), verankert. Hier entscheidet der auf der Oberfläche befindliche prä-T-Zell-Rezeptor (preTCR), bestehend aus CD44 ( $\beta$ -Kette) und der invarianten Kette p $\text{\textgreek{a}}$ , ob ein Eintreten in den Zellzyklus möglich ist. Dieser Kontrollpunkt wird auch als „Beta-Checkpoint“ bezeichnet. Die unreifen T-Zellen verweilen solange in diesem Stadium, bis das richtige  $\alpha$ -Ketten-Gen umgeordnet ist und der T-Zell-Rezeptor (TCR), bestehend aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Kette, auf der Oberfläche exprimiert werden kann. Erscheinen beide T-Zell-Rezeptoren CD4 plus CD8 zusammen mit CD3 auf der Oberfläche, werden diese T-Zellen nun als „Doppelt Positiv“ (DP) bezeichnet. Etwa 95% erreichen dieses Stadium nicht. Dies unterstreicht die Bedeutung des Kontrollpunktes beim Übergang vom DN- zum DP-Stadium (89).

Als kritischer Gesichtspunkt wird dabei die Regulation der Expression der p $\text{\textgreek{a}}$ -Kette betrachtet. Die p $\text{\textgreek{a}}$ -Gentranskription scheint bisher vor allem durch den upstream Bereich, dem Enhancer, entscheidend reguliert zu werden. Mehrere Proteine, unter ihnen befindet sich auch YY1, die in der Lage sind, an diesen Bereich zu binden, wurden identifiziert (90). Als weitere Bindungsproteine des Enhancer sind zu nennen: SP1/3, ZBP-89 und c-MYC. Betrachtet man diese Proteine im Zusammenhang mit YY1, kann man schlußfolgern, daß alle, ausgenommen ZBP-89, mit YY1 interagieren, so daß als weiterer Regulationspunkt von YY1 auch die T-Zellreifung angesehen wird. Unterstützt wird diese Annahme durch Befunde von Iritani et. al. (91). Sie konnten zeigen, daß c-MYC allein nicht in der Lage ist, die p $\text{\textgreek{a}}$ -Expression zu regulieren. Nur verschiedenste c-MYC Konzentrationen schienen zum Teil einen Einfluß auf den Zellwachstumsarrest im späten DP-Stadium zu haben. Ist YY1 im Thymus

überexprimiert, schaltet er die Transkription pTα an. In umgekehrter Weise, bei Unterexpression, verhindert er die pTα-Transkription. Bei Überexpression oder Unterexpression, sowie Sequenzveränderungen von YY1 können T-Zellen während ihrer Entwicklung in den Arrest geschickt oder aber in ein weiteres T-Zellstadium überführt werden.

Da die T-Zellreifung und deren Selektion bei allen Autoimmunerkrankungen, wie Rheumatoide Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie u.a., entscheidend ist, können neben dem Typ-1-Diabetes auch Autoimmunerkrankungen per se durch YY1 beeinflußt werden, was durch Auf- oder Abregulation von YY1 erreicht wird.

Es wird davon ausgegangen, daß sich die YY1-Sequenz zwischen Typ-1-Diabetiker und gesunden Probanden unterscheidet. Mehrere Sequenzvarianten werden für Typ-1-Diabetiker erwartet, da es neben dem klassischen Typ-1-Diabetiker auch noch weitere Formen für Typ-1-Diabetes existieren, wie zum Beispiel der LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults). Diese Sequenzvarianten sollen als genetischer Marker für die Prädiabetiker genutzt werden. Der Nachweis der Änderung basiert auf der DNA-Sequenzierung, wobei Vollblut gewonnen, DNA bzw. RNA, die umgeschrieben wird in ssDNA, isoliert und dann sequenziert wird.

Parallel dazu wird das Expressionsprofil für Typ-1-Diabetiker erstellt. In Anbetracht der Tatsache, daß die Krankheit eines jeden Typ-1-Diabetikers individuell verläuft, wird erwartet, daß das Expressionsprofil von Proband zu Proband unterschiedlich ist. In Abhängigkeit vom Alter des Probanden, vom Geschlecht, vom Autoantikörperstatus [GAD (Glutamatdecarboxylase), IA-2 (Proteintyrosinphosphatase), ICA (zytoplasmatische Insellzellautoantikörper)] vom BMI, sowie vom HLA-Genotyp (HLA-

DQB1) werden unterschiedliche Expressionsprofile erwartet. Demnach soll eine entsprechende Prophylaxe/Therapie auch individuell zugeschnitten werden. Durch die genetische Heterogenität interagiert YY1 bei jedem Individuum mit einem differenten genetischen Hintergrund, so daß die YY1-Expression zwischen den Individuen großen Schwankungen unterliegen wird.

Eine Abregulation kann über Applikation von Antisense und durch Herstellung spezifischer Antikörper für den jeweiligen Probanden erreicht werden. Die Struktur der Antisense und der Antikörper ergibt sich aus der Sequenzfolge des Probanden. Die zu applizierende Menge der Antisense sowie Antikörper ergibt sich aus dem Expressionsprofil des Probanden (Auf- und Abregulation vgl. M&M).

Daß YY1 selbst als Autoantigen fungiert, liegt nahe, weil bis dato das auslösende Autoantigen für die Zerstörung der Insulin-produzierenden Beta-Zelle immer noch nicht bekannt ist. Liegt eine Bestätigung vor, daß YY1 als Autoantigen fungiert, soll über orale Verabreichung von YY1 Toleranz induziert werden, wie es bei Allergikern durch Hypersensibilisierung bereits erfolgt. Dabei soll für den jeweiligen Probanden oder Probandengruppen die Sequenzvarianten erfaßt und anschließend die mutierte Form synthetisch hergestellt werden, um es oral verabreichen zu können. Damit soll eine Verschiebung des TH1/TH2 Profils erreicht werden, um der autoimmunen Zerstörung entgegenzuwirken.

Daß durch Applikation von nackter cDNA oder DNA die Entstehung eines Typ-1-Diabetes bei BB/OK-Ratten verringert werden kann, zeigten jüngste Ergebnisse einer Pilotstudie. 174 Nachkommen nicht-diabetischer Muttertiere wurde mit 2, 8, 12, 16, 20, 25 und 30 Tagen nackte DNA der Primer K815 und K817, K831 und

K818 (Figur 11) sowie gereinigte PCR-Produkte unter Verwendung der Primer K815 und K817 (Amplifikation genomischer BB/OK-DNA, Intron von YY1, Sequenz 1069 bis 1804) sowie K831 und K870 (Amplifikation von BB/OK-cDNA, Exon 3, 4 und 5, Zinkfinger, Sequenz 911 bis 1125 und 1758 bis 2078) dosisabhängig (100, 200 und 400 ng in 50  $\mu$ l) einmal an den o.g. Tagen s.c. appliziert. Darüber hinaus wurden nicht-diabetische BB/OK-Weibchen gezielt angepaart, die bei Spermanachweis und dann am 4., 8., 12., 16. und 18. Schwangerschaftstag mit 100 oder 400 ng nackter DNA (Primer K815/K817) behandelt wurden. Die 24 Nachkommen dieser Mütter und die 174 post-partuum behandelten Nachkommen wurden bis zur 30. Lebenswoche auf Diabetesvorkommen beobachtet. Als Kontrolle dienten unbehandelte sowie behandelte BB/OK-Ratten, denen 50  $\mu$ l Wasser s.c. im gleichen Alter appliziert wurde. Nach 30 Wochen waren 93% der behandelten (13/14) und 86% der unbehandelten Kontrolltiere (19/22) erkrankt. Eine recht deutliche Senkung der Diabeteshäufigkeit wurde in 2 Versuchsgruppen beobachtet. Die Häufigkeit sank auf 62% (8/13) bei Applikation des Zinkfinger-PCR-Produktes (400 ng) und auf 50% (6/12) bei den Nachkommen, die von dem mit 400ng behandelten Muttertier geboren wurden: Alle übrigen Versuchsgruppen erkrankten mit den der Kontrollgruppen vergleichbaren Häufigkeit (74 bis 100%), wobei eine Dosisabhängigkeit zu beobachten war. Eine weitere Studie zeigte, dass die Applikation von 400ng/50 $\mu$ l PCR-Produkt, amplifiziert mit den Primern K831/K870 die Diabetesinzidenz weiter senken konnte. Im Vergleich zur „Wasserkontrolle“ (16/19=84%) erkrankten signifikant weniger BB/OK-Ratten (16/19 vs. 13/27; p=0.013) der behandelten Gruppe. Angesichts dieser ersten Ergebnisse wird davon ausgegangen, daß durch eine häufigere und/oder längere Applikation nackter DNA und/oder PCR-Produkten eine Senkung der Diabeteshäufigkeit bei BB/OK-Ratten gegen 0% erreicht werden kann.

### Protoonkogene und Krebs

Das c-MYC Gen wurde ursprünglich als zelluläres Homolog des retroviralen v-myc Onkogens in den 70er Jahren entdeckt. Embryonale Lethalität ist das Ergebnis einer Deletion dieses Gens. Das Produkt eines c-MYC Protoonkogens ist das c-MYC Protein, welches - ebenso wie YY1- einen multifunktioneller Transkriptionsfaktor darstellt. Eine entscheidende Rolle spielt c-MYC in der Differenzierung, dem Zellwachstum, Proliferation, Transformation und Apoptosis von Zellen. Die Dysregulationen der c-MYC Expression stehen im Zusammenhang mit abnormalen malignen Zellwachstum und somit der Tumorentstehung von Lungenkrebs, Brustkrebs und Darmkrebs. Dies zeigt, daß c-MYC als starker Regulator des Zellwachstums, der Zell-differenzierung und Zellproliferation ebenso stark kontrolliert wie balanciert werden muß, um die Carzinomentstehung zu verhindern (102-104).

Da YY1 als vielseitiger Regulator in Abwesenheit von dem essentiellen Partnerprotein (MAX) direkt an den C-terminalen Teil des basischen Helix-Loop-Helix (bHLH) Zinkfingers von c-MYC binden kann, spielt YY1 auch bei der Krebsentstehung eine bedeutende Rolle. Hierbei ist YY1 in der Lage, jeden seiner vier Zinkfinger dazu zu benutzen, um an das c-MYC Protein zu binden. Nicht möglich ist es YY1 jedoch, die Verbindung zwischen dem Komplex von c-MYC/MAX zu unterbrechen. Da aber trotz Komplexbildung zwischen YY1 und c-MYC die sequenzspezifische DNA-Bindung von YY1 nicht blockiert wird, ist die Regulation auf DNA-Ebene durch YY1 immer noch möglich.

Das humanen c-MYC Gen kodiert zwei Polypeptide (439 und 453 Aminosäuren) mit einem Molekulargewicht von 64 und 67 kDa und ist im Zellkern lokalisiert. Der Translationsstart des größte-

ren Proteins liegt am Ende des ersten Exons, während die kleinere und meist vorherrschende Form des Proteins durch Translation im zweiten Exon initiiert wird.

C-MYC ist ein Transkriptionsfaktor, der basische Helix-Loop-Helix/Leuzin-Zipper Domäne (bHLH-LZ) aufweist, wobei diese konservierten Domänen Bestandteil vieler Transkriptionsfaktoren sind und Protein/Protein, sowie Protein/DNA-Interaktionen vermitteln.

C-MYC ist Teil einer Genfamilie, die noch weitere Mitglieder wie N-, L-, S- und B-myc beinhaltet (105-108).

Die Bindung von c-MYC an die DNA erfolgt über die sogenannte E-Box, eine spezifische regulatorische Sequenz der Basen 5'-CACGTG-3'. Zur Aktivierung der Transkription muß das c-MYC Protein mit dem Partnerprotein MAX heterodimere Komplexe ausbilden (109). MAX gehört ebenfalls zu den bHLH-LZ Proteinen, besitzt aber keine transaktivierende Domäne wie c-MYC (110). Die Heterodimerisierung mit MAX ist essentiell für die Funktionen von c-MYC, wie Regulation des Zellzyklus, Einleiten von Apoptose oder Transformation von Zellen. MAX bildet weiterhin mit den bHLH-LZ Proteinen der MAD-Familie Komplexe. Diese Heterodimere binden ebenfalls spezifisch an E-Boxen und wirken transkriptionsreprimierend über Sin3-vermittelte Rekrutierung von Histondeacetylasen (111).

Demnach sollte durch Ab- oder auch Aufregulation von YY1, bedingt durch seine vielfältigen Interaktionen mit anderen Genen, auch über c-MYC, eine Beeinflussung der Krebsentstehung möglich sein, was durch folgende Beobachtungen unterstrichen wird.

BB/OK-Ratten entwickeln nicht nur einen Typ-1-Diabetes sondern auch Tumore wie eine Langzeitstudie zeigte. 202 BB/OK-Ratten wurden bis zu ihrem natürlichen Tod beobachtet. 87 von den 202 wurden diabetisch. Die verbleibenden 115 Tiere überlebten im Mittel  $576 \pm 79$  Tage. Nur 37% (42/115) wurden älter als 400 Tage. Die Mehrzahl der Tiere (73/115) starb zwischen dem 200. und 400. Lebenstag vornhemlich an Tumoren (50/115). Betroffen waren Leber, Lymphknoten, Lunge, Darm, Pankreas und Milz (112). Analog wurde eine Studie mit BB.6S-Ratten durchgeführt. 47 Tiere wurden bis zum 600. Lebenstag beobachtet. 6 von 47 Ratten (12,8%) wurden bis zur 30. Lebenswoche diabetisch, 2 weitere Tiere manifestierten im Alter von 437 und 560 Tag. 62% der Tiere (24 von 39 nichtdiabetischen Tieren) überlebten den Beobachtungszeitraum von 600 Tagen. 6 Tiere starben, ohne makroskopisch eine Todesursache feststellen zu können. 9 Tiere mußten auf Grund ihres schlechten Allgemeinzustandes getötet werden, wobei als Todesursache in 7 Fällen Darmverschluß und bei 2 Tieren Tumore in der Leber diagnostiziert wurden. Demnach überleben die kongenen BB.6S-Ratten signifikant länger als BB/OK-Ratten und die Tumorraten ist signifikant niedriger bei BB.6S als bei BB/OK (50/115 vs. 2/39,  $p<0.0001$ ). Angesichts dieser Befunde, scheint die ausgetauschte Region und damit YY1 bei BB.6S-Ratten die Tumorentstehung deutlich zu senken und die Lebenserwartung zu erhöhen. Demnach sollte durch Abregulation von YY1 die Tumorentstehung verhindert und die Lebenserwartung gesteigert werden können.

#### **Lipidstoffwechsel**

##### **- Steroidhormonsynthese**

Steroide werden in spezialisierten Zellen der Nebennieren, Eizellen, Hoden, Placenta und im Gehirn synthetisiert. Sie sind

essentiell für die Aufrechterhaltung der normalen Körpermöostase. Die Synthese aller Steroidhormone beginnt mit der Umwandlung von Cholesterol in Pregnenolon. Dies ist der erste enzymatische Schritt, der an der Matrix der innermitochondrialen Membran erfolgt.

Das Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) spielt eine Schlüsselrolle im Transport von Cholesterol von der äußeren zur innermitochondrialen Membran. Dieser Transport ist der ratenlimitierende Schritt in der Steroidogenese. Mutationen im StAR-Gen verursachen die potentiell lethalen Bedingungen, die als congenital lipoid adrenale Hyperplasie bekannt sind. Gleiche Beobachtungen konnten an StAR-Knock-out Mäusen gemacht werden (131).

StAR-Expression kann durch Agenzien positiv und negativ reguliert werden, die vorwiegend am Promotor wirken. Die hormonstimulierte Steroidsynthese ist begleitet von einem schnellen Anstieg der StAR-mRNA-Spiegel. cAMP hat einen positiven und schnellen Effekt auf den Anstieg der StAR-mRNA, scheint aber nicht direkt an der Promotorsequenz zu wirken.

Der erste Transkriptionsfaktor als potentieller Regulator des StAR-Gens war der Steroidogenic factor 1 (SF 1), auch Orphan Nuclear Rezeptor Transkriptionsfaktor genannt.

Der StAR-Promotor besitzt verschiedene Consensus-Bindungssequenzen für SF 1. Zwei von diesen an Position -97 und -42 sind hoch konserviert. Eine weitere an Position -132 wurde nur in Mäusen und Ratten gefunden.

Ein weiterer Kandidat ist das CCAAT/enhancer Bindungsproteine (C/EBPs), das zur Familie der bRegion/leucine zipper Tran-

skriptionsfaktoren gehört. Zwei Mitglieder dieser Familie werden in steroidogenen Zellen exprimiert (C/EMPa und C/EMP $\beta$ ). Der StAR-Promotor hat zwei mögliche Bindungsstellen für C/EMP. SF 1 und C/EMP bilden einen Komplex am StAR-Promotor.

Sowohl der humane als auch der Ratten-StAR-Promotor besitzt weiterhin Bindungsstellen für SREBP-1a (Sterol regulatory element binding protein-1a). SREBP-1a ist ein bedeutender Aktivator für den StAR-Promotor.

Weitere Transkriptionsfaktoren wie SF 1, NF-Y, YY1, und SP1 sind in die Wirkung von SREBP am StAR-Promotor involviert. SREBP-1a reguliert koordinierend zusammen mit den anderen Faktoren den StAR-Promotor.

CREB kann ebenfalls binden und auf schnelle Weise die Transkription aktivieren (cAMP Bindung).

DAX-1 bindet direkt an der Hairpin-Struktur des StAR-Promotors sowie direkt an SF-1 und inhibiert in beiden Fällen deren Expression (131).

Wenn SREBP-1a eine koordinierende Rolle in der Bereitstellung von Cholesterol in der Steroidhormonsynthese übernimmt, kommt ihm eine essentielle Bedeutung in der Cholesterolhomöostase zu. Der StAR-Promotor der Ratte besitzt 5 sogenannte SRE-Bindungsstellen (Sterol Regulatory Element), an die die aktivierte Form von SREBP-1a binden und die Transkription aktivieren kann (132). Eine weitere SRE-Bindungsstelle wurde im humangen StAR-Promotor gefunden, an die sowohl SREBP-1a als auch YY1 binden kann und bedingungsabhängig bei hohen Konzentrationen von SREBP-1a aktiv ist (133).

SREBPs gehören zur Familie der basic helix-loop-helix leucine zipper (bHLH-Zip) Transkriptionsfaktoren, die als 125 kDa membrangebundene Precursor-Proteine im endoplasmatischen Retikulum synthetisiert werden und bei Sterolmangel in der Zelle durch enzymatische Abspaltung der 68 kDa N-terminalen, die bHLH-Zip Domäne enthaltenden Region des Proteins aktiviert werden und in den Nucleus einwandern. Dort binden sie spezifisch an die DNA-Sequenz von SRE (sterol regulatory element) und aktivieren die Transkription ihrer Zielgene (134, 135).

Es wurden bisher drei SREBPs beschrieben, die SREBP-1a, SREBP-1c und SREBP-2 genannt werden. SREBP-1a und -1c werden vom gleichen Gen unter Nutzung alternativer Promotoren exprimiert. SREBP-2 wird von einem separaten Gen exprimiert (135, 136).

Cholestolgene, die klassische SRE-Bindungsstellen in ihren Promotoren besitzen, werden stark und effektiv von SREBP-1a und SREBP-2 aktiviert. SREBP-1c ist inaktiv für diese Bindungsstellen.

SREBP-1c, auch ADD 1 genannt, weist eine Besonderheit auf. Es bindet an E-Boxen (universelle cis-Elemente für bHLH-Proteine). Damit weist es eine duale Bindungsspezifität zu beiden, den klassischen palindromen E-Boxen und den nonpalindromen SREs, auf. Diese einmalige Bindungsspezifität ist auf den Thyrosinrest in der basischen Region zurückzuführen, der einmalig für die SREBP-Familie ist, denn alle bekannten bHLH-Proteine besitzen an dieser Position Arginin (136). Dieser Austausch zerstört die Transaktivität aller SREBPs für SRE-Bindungsstellen, erhöht aber markant die Aktivität von SREBP-1 für Bindung an E-Boxen (siehe SREBP-1c) aber auch von SREBP-2. Dieses ist jedoch inaktiv und aktiviert das Zielgen nicht (136).

Die SREBPs sind unterschiedlich starke Transkriptionsfaktoren und benötigen meist Cofaktoren. Solche sind NF-Y, SP1, CBP (CREB-Bindungsprotein).

SREBP-Zielgene werden in 2 Gruppen eingeteilt (136):

- Cholesterol-Biosynthese-Gene
  - HMG-CoA-synthase und -reduktase
  - Farnesyl-diphosphatsynthase
  - Squalensynthase
  - SREBP-2
  - LDL-Rezeptor
  - HDL-Rezeptor (137)  
Alle enthalten die klassische SRE-Sequenz (ATCACCCAC) oder das SRE 3 Motif (CTCACACGAG) und angrenzende Cofaktor-Bindungsstellen für NF-Y oder SP1 in ihren Promotoren.
- Lipogene Enzym-Gene  
Sind nahrungsreguliert auf der Transkriptionsebene (z.B. Glukose, Insulin)
  - Acetyl-CoA-Carboxylase
  - Fettsäuresynthase (FAS, erhöht TG)
  - Steryl-CoADesaturase 1 und 2
  - Glycerol-3-phosphat-Acyltransferase
  - Diacepam-binding Inhibitor (Acyl-CoA-Bindungsprotein)
  - Spot 14 (Leberenzym S 14)  
Die SREBP-Bindungs- und -Aktivierungsstellen in den Promotoren dieser Gene scheinen sich von den klassischen SRE-Consensus-Sequenzen zu unterscheiden und werden als SRE-like-Sequenzen bezeichnet.

Einige weitere Enzyme wie Liver-Type-Pyruvatkinase (PK) und Glukokinase (GK) enthalten E-Box oder E-Box-like Sequenzen im Promotor, was bedeuten kann, daß sie Kohlenhydrat, Glukose- und Insulin-sensitiv sind und potentiell SREBP-Targets sein können.

Alle aktiv wachsenden Zellkulturen produzierten prädominant SREBP-1a und SREBP-2, wogegen die meisten Organe einschließlich Leber von adulten Tieren SREBP-1c und SREBP-2 produzieren. Alle SREBPs sind in der Lage, jedes der bekannten Zielgene zu aktivieren, jedoch mit unterschiedlicher Effizienz. SREBP-1c ist schwächer (kürzere Transaktivierungsdomäne) als SREBP-1a und SREBP-2.

Die spezifische Rolle der SREBP-Isoformen *in vivo* wurde in transgenen Mäusen untersucht. Die differente Überexpression ergab, daß die SREBP-1-Isoformen selektiv die Fettsäurebiosynthesegene aktivieren und SREBP-2 spezifisch die Cholesterolbiosynthese kontrolliert.

SREBP-1a und -1c spielen eine große Rolle in der nahrungsabhängigen Induktion hepatisch lipogener Enzyme und der Cholesterogenese. SREBP-2 dagegen bestimmt die Sterolregulation durch Abbau des membrangebundenen Precursor-Proteins, um die aktive Form für die Einwanderung in den Nukleus bereitzustellen. SREBP-1 kontrolliert lipogene Enzyme durch Selbstregulation seines eigenen Transkriptionslevels.

Der Fakt, daß die SREBPs relativ schwache Transkriptionsfaktoren sind und Cofaktoren benötigen, wurde bereits erwähnt. Bennett et.al.(138) zeigten beispielsweise, daß die Aktivierung der SREBPs durch Sterolmangel *in vivo* in einer erhöhten Bin-

dung von SP1 an einer, an die SREBP-Bindungsstelle angrenzenden Sequenz im Promotor für das LDL-Rezeptorgen bindet. Ähnlich werden die zwei coregulierenden Faktoren NF-Y und CREB (cAMP Responsive Element Binding Protein) verstärkt an den Promotor von HMG CoA-Reduktase gebunden. SREBP-Aktivierung erhöht die Histonacetylierung von H 3, nicht aber von H 4 im Chromatin beider Promotoren (HMG-CoA-Synthase und -Reduktase). Die Resultate zeigen, daß feine Differenzen im Muster der Kern-Histon-Acetylierung eine Rolle in der selektiven Genaktivierung spielen. Das zeigt, daß die Bindung der Transkriptionsfaktoren an die DNA eine notwendige, aber nicht ausreichende Bedingung für die Transaktivierung ist (138).

SREBP-1 kann einige andere E-Box oder E-Box-like-Sequenzen im FAS-Promotor und im S14-Promotor aktivieren, ist aber völlig inaktiv für degenerierte E-Box-Sequenzen z.B. im PK Promotor. Promotoren mit SRE-Bindungsstellen benötigen unbedingt NF-Y oder SP1 als Cofaktoren für die SREBP-Aktivierung. SREBP-1 hat eine wesentlich höhere Affinität und ist effizienter in der Aktivierung von SRE enthaltenden Promotoren als von E-Box enthaltenden Promotoren.

In lipogenen Enzymen, die Promotoren mit SRE-like-Sequenzen enthalten, aktivieren alle Isoformen von SREBP die Transkription (SREBP-1a stärker als SREBP-1c, SREBP-1a bevorzugt gegenüber SREBP-2). Die Bindung der SREBP-Isomeren an die verschiedenen Bindungsdomänen der Genpromotoren (136) ist in Fig. 6 dargestellt.

#### - Einfluß von YY1 auf die Regulation der lipogenen Gene

YY1 ist bekannt als Transkriptionsmodulator, der sowohl als Enhancer und Repressor aber auch als Initiator-Bindungsprotein

wirken kann, was von der Herkunft der Zelle und den Bindungsstellen des Promotors abhängig ist. YY1 ist auch in der Lage, den gleichen Promotor zu aktivieren und zu hemmen, wenn das intrazelluläre Milieu verändert ist, das Bindungselement im Promotor mutiert (verändert) ist, oder die Bindungsstelle umgebende DNA-Sequenz alteriert ist.

In Hinblick auf die betrachteten Gene lassen sich folgende Einflüsse von YY1 folgern.

YY1 besitzt eine hohe Affinität zu SREBP-1a. Im StAR-Promotor befindet sich eine YY1-Bindungsstelle, die mit der proximalen Bindungsstelle für SREBP-1a überlappt. Die gleichzeitige Bindung von SREBP-1a und YY1 am StAR-Promotor reprimiert dessen Transkription. Dieser Fakt beeinflußt wiederum den Cholesteroltransport und somit die Steroidhormonsynthese.

YY1 wirkt als Aktivator spezifischer Repressor, konkurriert mit den Bindungsstellen der SREBPs und deren Cofaktoren bzw. behindert sterisch die Bindung der SREBPs z.B. an SREs der lipogenen Gene. Er wirkt sowohl als Typ-I-Repressor (Bindung an Cofaktoren, Komplexbildung) als auch als Typ-II-Repressor (direkte Bindung an die DNA, sterische Blockierung von Bindungsstellen). Durch Mutation der Bindungsstelle in YY1 konnte nachgewiesen werden, daß die SREBP-1a Aktivierung des StAR-Promotors um ein Vielfaches anstieg. Untersuchungen an transfizierten HepG2 Zellen ergaben, daß YY1 Mutanten (YY Δ 296-331, YY Δ 399-414, YY Δ 334-414 oder YY Δ 154-199) z.B. die sterolaktivierte Expression des LDL-Rezeptor und FPPS-Rezeptors nicht reprimierte. Die Mutationen YY Δ 334-414 oder YY Δ 154-199 verhindern die nukleare Lokalisation, die DNA-Bindung und die Interaktion mit CBP. YY Δ 296-331, YY Δ 399-

414 waren inaktiv bei der Repression der SREBP-1a abhängigen Induktion der Expression des HMG-CoA Synthase-Promotors (134).

Zahlreiche weitere Promotoren der sterolregulierten Gene enthalten potentielle Bindungsstellen für YY1 (CCAT oder ACAT) überlappend oder angrenzend an Bindungsstellen der Coaktivatoren bzw. Transkriptionsaktivatoren. Diese können durch YY1 verdrängt oder blockiert und damit die Genexpression reprimiert werden (vgl. Fig. 7).

Nach dem gleichen Prinzip werden auch die anderen Promotoren durch YY1 reprimiert.

HDL-Rezeptor → positiv reguliert durch SREBP-1a plus SP1 ↔ YY1 (Repr.)

LDL-Rezeptor → positiv reguliert durch SREBP-1a plus SP1 ↔ YY1 (Repr.)  
Fettsäuresynthase

Farnesyl Synthase → positiv reguliert durch SREBP-1a plus NF-Y ↔ YY1(Repr.)  
HGM-Co A Synthase

HGM-CoA-Reduktasegenexpression wird durch YY1 nicht reprimiert.

Der Synergismus der Bindung von SREBP und NF-Y bzw. SP1 an Promotoren der SREBP-responsiven Gene, einschließlich SREBP-2, führt zur Aktivierung der Transkription, die die Cholesterolhomöostase (LDL-Rezeptor, HDL-Rezeptor, HMG-CoA-Synthase und -Reduktase, FPP(Farnesylphosphat)-Synthase, Squalensynthase) die Fettsäuresynthese (Fettsäuresynthase und AcetylCoA-Acetylase), den Fettsäureabbau (Stearyl-CoA-Desaturase) und die Triglyceridsynthese (Glycerol-3-phosphat-Acetyltransferase) kontrolliert (134).

YY1 kann über die o.g. Mechanismen in diese Prozesse eingreifen. YY1 kann auch durch Interaktion mit SREBP-1a die Erkennung der Domäne auf SREBP-1a für die RNA-Polymerase-II behindern und damit die Transkription reprimieren, was einen weiteren regulatorischen Mechanismus der Transkriptionsregulation darstellt (134).

#### **Beeinflussung der SREBP Aktivierung bei verschiedenen Erkrankungen**

In hepatischen Zellen wird vorwiegend SREBP-1c exprimiert, das in diesen Zellen auch durch Glukose und Insulin sowohl auf mRNA als auch auf Proteinebene stimuliert wird (139).

Bei experimentellem Streptozotozin-Diabetes von Ratten wurde eine massive Erhöhung der Expression von SREBP-1a und Fettsäuresynthase gefunden. Daraus resultierte eine starke Triglyceridakkumulation (TG). Behandlung mit Insulin konnte beides senken. In Nierenzellen war bei hoher Glukose die Expression von SREBP-1a und -1c mRNA und Proteinsynthese erhöht ebenfalls die Fettsäuresynthese und damit die TG-Akkumulation. SREBP-1-Expression ist bei Diabetes mellitus erhöht. SREBP-1 spielt eine bedeutende Rolle in der Erhöhung der Lipidsynthese, TG-Akkumulation, mesangialen Expansion, Glomerulosklerose und Proteinurie, indem es die Expression von TNF $\beta$  und des vaskulären Endothelwachstumsfaktors erhöht (140).

Bei Typ-2-Diabetikern wurde eine signifikante Verminderung der SREBP-1-Expression im subkutanen Fettgewebe und im Skelettmuskel gefunden. Ex vivo konnte dieser Effekt durch TNF $\alpha$  behoben werden (141).

Daher kann durch Auf- bzw. Abregulation von YY1 der Lipidstoffwechsel entsprechend beeinflußt werden wie nachfolgende Ergebnisse bestätigen.

Wie eingangs bereits erwähnt, unterscheiden sich BB/OK- und BB.6S-Ratten nicht nur signifikant in der Diabeteshäufigkeit und Manifestationsalter. Im Alter von 12 Wochen sind BB.6S-Ratten im Vergleich zu BB/OK auch schwerer und das Serumgesamtcholesterol ist bei männlichen und weiblichen Tieren und die Serumtriglyzeride sind bei Weibchen signifikant erhöht (24). Nach der 24. Lebenswoche sind auch die Serumtriglyzeride bei den männlichen BB.6S-Ratten signifikant gegenüber BB/OK erhöht. Auf Grund dieser Befunde lag der Schluß nahe, daß YY1 auch im Fettstoffwechsel involviert ist. Daher wurde in einer Pilotstudie geprüft, inwieweit die Applikation von YY1-Antisense der 4 Zinkfinger die Lipide beeinflussen kann. 10-12 männlichen Ratten der Stämme BB/OK, LEW.1A, LEW.1W, WOKW und SHR wurden 600ng/100 $\mu$ l Antisense für 2 Wochen, beginnend in der 9. Lebenswoche, appliziert. Die Serumtriglyzeride (TG), -gesamtcholesterol (Chol) und - HDL-Cholesterol (HDL) wurden vor (8. Woche) und nach Applikation (10. Woche) bestimmt. Die genetisch und phänotypisch differenten Stämme reagierten erwartungsgemäß unterschiedlich wie nachfolgend zusammengestellt ist.

Stamm	TG	Chol	HDL	HDL/Chol- Ratio#
BB/OK	↑*			↑**
BB.LL	↑*			
LEW.1A		↓**	↓*	↑*
LEW.1W		↓**	↓**	
SHR	↓*	↓**	↓**	↑**
WOKW		↓**	↓**	

↑ ↓ signifikant erhöht bzw. erniedrigt. \* p<0.05 \*\* p<0.01

# HDL/Cholesterol-Ratio

Interessanterweise erkrankten von den 12 BB/OK-Ratten bis zur 30. Lebenswoche nur 7 Tiere (58%), was den diabetesprotektiven Effekt von Yy1-PCR-Produkten erneut unterstreicht (s.S.32).

Wie für den Typ 1 Diabetes beschrieben sollte es in Abhängigkeit vom Expressionsprofil der Probanden möglich sein, auch die Blutfette zu beeinflussen (vgl. Material & Methoden-Teil).

#### Vitamin D, Calciumstoffwechsel und Entwicklungsprozesse

Vitamin D gehört neben dem Parathormon (PTH), Calcitonin (CT) und dem PTH related Peptide (PTHrP) zu den Hauptregulatoren des Calciumstoffwechsels. Seit 1966 ist bekannt, daß Vitamin-D in einer aktiven Form vorliegen muß, um seine funktionelle Aufgaben wahrnehmen zu können (143). Die aktive Form entsteht durch die Hydroxylierung am C25 sowie am C1 Atom. Bezeichnet wird diese Form als 1,25-Dihydroxycholecalciferol oder als Vitamin-D<sub>3</sub>. Eine Aufgabe des Calciferols besteht darin, der Absenkung des Plasmacalciumspiegels entgegen zu wirken. Erreicht wird dies über eine vermehrte intestinale Calciumresorption,

durch gesteigerte renale Calciumresorption und durch gesteigerte Calciummobilisation aus dem Skelettsystems (144). Die intestinale Resorption benötigt ein aktives Transportsystem (Calcium bindende Proteine, Calbindin), das nur in Anwesenheit von Vitamin-D<sub>3</sub> zu finden ist. Darüber hinaus ist Vitamin-D<sub>3</sub> auch für die Erhaltung der Funktionsfähigkeit der intestinalen Mucosazellen verantwortlich: Calbindine, Osteocalcin, Matrix-Gla-Protein, Osteopontin, Kollagen Typ I etc. werden durch Calciferol induziert. Einfluß auf die Proliferation, Differenzierung, Hormonsekretion und Apoptose werden auch durch Calciferol ausgeübt. Die Bedeutung des Vitamin-D<sub>3</sub> wird an Mangelerscheinungen, sogenannten Hypovitaminosen (Rachitis, Osteomalazie) deutlich (144).

Mit der Entdeckung des Vitamin-D-Rezeptors (VDR; 145, 146) konnte der Wirkmechanismus untersucht werden. Mit Hilfe des VDR konnte gezeigt werden, daß Vitamin-D im Kern von Keratinozyten der Haut, Langerhansschen Inseln des Pankreas, Lymphozyten, Promyelozyten etc. lokalisiert ist. Die aktive Form des Vitamin-D ist lipophil, so daß es über Diffusion durch die Zellmembran in die Zelle und weiter in den Zellkern gelangt und dort mit hoher Affinität an seinen Rezeptor bindet. Der VDR gehört zu der Familie der ligandengesteuerten Transkriptionsfaktoren. Nach Aktivierung durch seinen Liganden, moduliert VDR die Transkription solcher Genabschnitte, die ein dem Rezeptor zugeordnetes DNA-Element tragen, die sogenannten Hormone-Response-Elemente (HRE). Für den VDR werden diese Genabschnitte Vitamin-D-Response Elemente (VDREs) genannt. Gene, die VDRE enthalten, sind u.a. Osteocalcin (OC), Calbindin D9k (CALB3) und D28k (CALB1), Vitamin-D 24-Hydroxylase (CYP24), Osteopontin (OPN), atriale natriuretische Peptid (ANP), Parathormon (PTH), Carbonanhydrase II (CA-II), Integrin, beta-3 (ITGB3), Fibronektin (FN1), c-fos, Parathormon-related Peptid

(PTHrP), „slow myosin heavy chain 3“ (slowMyHC3), gewebespezifischer Plasminogenaktivator (t-PA), Wachstumsfaktor 1 (PIT1; POU1F) und Involucrin (IVL).

Die Studie von DeLuca et al. (147) zeigte, daß sich die aktive Form des Vitamins auch in Lymphozyten (CD4 und CD8), insbesondere in aktivierten T-Lymphozyten befindet. Immunsuppression von Autoimmunkrankheiten konnte auf die aktive Form von Vitamin-D<sub>3</sub> und Ca<sup>2+</sup> zurückgeführt werden. Da im Rahmen der vorliegenden Erfindung gezeigt werden konnte, daß bei Ca<sup>2+</sup>-reicher Diät die Diabetesinsidenz von BB.6S-Ratten von 15 auf 45% erhöht werden kann, muß hier ein weiterer Regelmechanismus von YY1 existieren.

Guo et al. (148) konnte erstmals die Rolle von YY1 im Calciumstoffwechsel für das Osteocalcingen zeigen. YY1 reprimiert die 1,25-Dihydroxcholecalciferol vermittelte Transaktivierung des knochenspezifischen Osteocalcingens. Aufgrund der Interaktion von YY1 mit beiden Komponenten, VDR und Transkriptionsfaktor IIB (TFIIB), ist er in der Lage, die von Vitamin-D abhängigen Transkriptionen zu regulieren. Darüber hinaus konkurriert das VDR/RXR (Retinoid X Receptor)-Heterodimer mit YY1 um die Bindungsstellen der VDR-Elemente im Osteocalcingen. Da VDREs in vielen Genen vorhanden sind, übernimmt YY1 dort weitere regulatorische Rollen.

Zusätzlich ist es YY1 möglich, bereits in die Synthese von Calciferol einzugreifen. Durch die Repression der Transkription des Enzyms, 25-Hydroxyvitamin-D<sub>3</sub>-24-hydroxylase [24(OH)ase; CYP24], ist der Katabolismus gestört. Eine erhöhte Repression konnte in Anwesenheit von TFIIB oder CBP (CREB-Binding-Protein) festgestellt werden (149). Darüber hinaus konnte bei transgenen Ratten, bei denen CYP24 überexprimiert wurde, ge-

zeigt werden, daß diese Tiere eine Albuminurie und Hyperlipidämie entwickelten. Eine Beobachtung, die in diesem Zusammenhang an die erhöhten Blutfette der BB.6S-Ratten im Vergleich zum Parentalstamm, der BB/OK-Ratte, erinnert. Auch entwickelten diese transgenen Ratten atherosklerotische Läsionen an der Aorta (150).

Daß der VDR im Zusammenhang mit dem Typ1-Diabetes steht, konnte von der Gruppe Chang et al. (151) gezeigt werden. Als direkter negativer Faktor fungiert die aktive Form von Vitamin-D auch im Renin-Angiotensin-System. Dieses System spielt eine wichtige Rolle in der Regulation des Flüssigkeits- und Elektrolythaushalts und somit auch in der Blutdruckkontrolle. Bei Abweichung des Vitamin-D-Levels kommt es zur direkten Inhibition der Renin-Gen-Expression. Somit spielt Vitamin-D nicht nur als Regulator bei der Aufrechterhaltung der Calcium-Hömostase eine Rolle sondern auch im Hömostase-Prozess der Elektrolyte, dem Blutvolumen und Blutdruck (152). Unterstützend dazu kann die Studie von Bhalla et al. (153) herangezogen werden. Man konnte zeigen, daß YY1 synergistisch mit GATA-4 als transkriptioneller Komplex über CBP/p300 die „brain natriuretic“ Peptid (BNP)-Gen-Transkription aktiviert. BNP gehört zur Familie der natriuretischen Peptide, die aus 3 Peptiden (atriale natriuretische Peptid, ANP; BNP; natriuretische Peptid Typ C, CNP) besteht. Ihre Hauptwirkung liegt in einer Zunahme der Natriumausscheidung, in einer Gefäßerweiterung (Vasodilatation) und in einer Abnahme der Aldosteronsekretion (wichtigstes Mineralocorticoid, beeinflußt den Natrium-, Kalium- und Wasserhaushalt in sämtlichen Geweben), womit sie den eigentlichen Gegenspieler des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems darstellen. GATA-4 gehört zu der Familie der GATA-Zink-Finger-Transkriptionsfaktoren und ist im adulten Gewebe des Herzens, im Darmepithel und Gonaden exprimiert. Während

der Fetalentwicklung ist GATA-4 bei der Herzformation beteiligt. Daher fungieren GATA-4 als auch YY1 gleichermaßen als Schlüsselement bei der myocardialen Differenzierung und Funktion. Beide beeinflussen zahlreiche Herz-Gene (154-158). Unter Anderem konnte gezeigt werden, daß YY1 in Verbindung mit der Hypertrophy in Herzmyozyten (über IL1 $\beta$  vermittelt) steht (159).

In Anbetracht der bisher vorliegenden Arbeiten, sowie eigener Ergebnisse (s.o.), kann der Schluß gezogen werden, daß YY1 in den Calciumstoffwechsel selbst eingreift oder aber durch Calcium (und deren Komponenten) beeinflußt wird. Außerdem kann davon ausgegangen werden, daß YY1 eine wesentliche Rolle bei der Blutdruckregulation und Muskelkontraktion zukommt. Daher soll je nach betroffenem Gewebe und in Abhängigkeit vom Geschlecht YY1 ab- oder aufreguliert werden.

Mit Hilfe von Maus-Embryonen konnte dargestellt werden, daß YY1 in dem Entwicklungsprozess von Knochen eine bedeutende Rolle hat. Er ist in der Lage das MSX2 Gen zu aktivieren (160). MSX2 gehört zu der Klasse der Homöobox-Genen und wird in zahlreichen Geweben von Embryonen exprimiert. Als Schlüsselmediator ist MSX2 während verschiedenster Entwicklungsprozesse, wie zum Beispiel bei der Formation von Schädel, Zähnen, Augen, sowie in der cranio-facialen Morphogenese beteiligt. Er ist involviert in der epithelialen-mesenchymalen Interaktion und Apoptose (161-165). Bei Dysregulation des Expressionslevel von MSX2 konnte abnormes Wachstum festgestellt werden. Zwei Faktoren, BMP4 (Bone Morphogenetic Protein Typ 4) und YY1 regulieren die Expression von MSX2 in embryonalen Geweben (166). Unabhängig von BMP4 ist YY1 im Stande an drei Stellen des Promoters von MSX2 zu binden und somit zu aktivieren (160). Die Involvierung von YY1 in die Prozesse der Embryogenese, Neuro-

nal-, Skelettmuskel- und Knochenentwicklung läßt den Schluß zu, daß YY1 mit Sicherheit bei Mutation oder Fehlregulation an Erkrankungen der Muskeln, Knochen und dem Gehirn entscheidend beteiligt sein wird (167). Daher kann auch hierbei je nach betroffenem Gewebe und in Abhängigkeit vom Geschlecht, YY1 ab- oder aufreguliert werden.

### Nutzung der Erkenntnisse

#### 1. Diagnostik

##### DNA-Sequenz und Genexpression

Ausgehend von der vorliegenden YY1 Sequenz werden unter Verwendung der in Fig. 11 aufgeführten Primer Sequenzänderungen in YY1 zur Diagnose von möglichen Fehlleistungen genutzt. Dazu wird genomische DNA und ssDNA aus mononukleären Blutzellen mit den Primern amplifiziert und sequenziert bzw. Punktmutationsanalysen (SNPs) durchgeführt (vgl. Kwok P.Y. SNP genotyping with fluorescence polarisation detection. Hum. Mutat. 19, 2002, 315-323).

Darüber hinaus wird RNA aus mononukleären Blutzellen und Gewebe durch Biopsie (Muskel, Fettgewebe, Haut) bzw. durch Punktion von Niere und Leber gewonnen, umgeschrieben in ssDNA und sequenziert (Umschreibung in ssDNA) sowie zur Genexpressionsanalyse eingesetzt, wie oben beschrieben (vgl. S.22/23, "Genexpressionsstudien"). Es wird davon ausgegangen, daß in den Geweben unterschiedliche Expressionsmuster und auch Spleißvarianten (s. verkürzter Zinkfinger bei BB.6S in Leber, Pankreas und Hirn) auftreten können und wichtige Hinweise zur Regulation von YY1 in den Geweben und zur Erkrankung geben.

Diese Gewebe kommen in Betracht, da beim Typ-1-Diabetes diabetische Folgeerkrankungen auftreten können, die sich in verschiedenen Geweben manifestieren (diabetische Nephropathie, Retinopathie, Neuropathie etc.). Folgeerkrankungen sind u.a. Fettstoffwechselstörungen (Fettgewebe, Leber), Bluthochdruck (Niere), Herz-Kreislauferkrankungen (Muskelgewebe) aber auch dermatologische Erkrankungen (Haut). Da nicht alle Diabetiker gleichermaßen an allen Folgeerkrankungen leiden, wird erwartet, daß das Expressionsprofil von Proband zu Proband unterschiedlich ist.

#### **ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)**

Um serologische Tests zur Diagnostik durchführen zu können, kann die Sequenz genutzt werden, um verschiedene ELISA-Verfahren zu etablieren. Dafür werden monoklonale und polyklonale Antikörper erzeugt.

#### **Herstellung von polyklonalen und monoklonalen Antikörpern (s. Ref. 89)**

Es werden erfindungsgemäß polyklonale Antikörper gegen YY1 hergestellt. Zur Erzeugung können Kaninchen genutzt werden.

Das Protein YY1, synthetisch hergestellt und individuell für den Probanden, wird mit einem sogenannten vollständigen Freundschen Adjuvans versetzt. Das Adjuvans schützt das Protein YY1 vor der Degradierung. Das Freundsche Adjuvans besteht aus einer Mischung von Paraffinöl und Manidmonooleat, der inaktivierte und getrocknete Tuberkulosebakterien (*Mycobacterium tuberculosis*) zugesetzt wurden. Dies bewirkt im Tier eine allgemeine Immunreaktivität, die primäre Immunantwort. Das Gemisch wird intradermal, subkutan oder intramuskulär ins Kanin-

chen injiziert. Nach ungefähr vier bis sechs Wochen wird das gleiche Protein mit inkompletten Adjuvans (Bakterien fehlen) erneut injiziert, um eine sekundäre Immunantwort auszulösen. In Abhängigkeit vom Antikörpertiter wird das Tier entblutet und das Antiserum gewonnen.

Für die Herstellung monoklonaler Antikörper (mAK) wird die von Köhler und Milstein entwickelte Hybridoma-Technik angewandt.

Mäuse werden mit dem YY1-Protein, daß in Abhängigkeit von der DNA-Sequenz des Probanden synthetisch hergestellt wird, immunisiert. Die antikörperproduzierenden Milz-Lymphozyten werden anschließend in Kultur mit Myelomzellen (Krebszellen) fusioniert in Anwesenheit von Polyethylenglykol. Nach Fusionierung werden die sogenannten Hybridome in Mikrotitertestplatten (0,2 ml Volumen) verteilt und mit dem HAT (Hypoxanthin-Aminopterin-Thymidin) -Selektionsmedium kultiviert. Das Medium gewährleistet, daß nur Hybridome wachsen. Nach 10 Tagen Kultur werden die Hybridome vereinzelt und in Kultur weitervermehrt. Die mAK werden aus den Zellkulturüberständen isoliert.

**Reinigung der Antikörper (Affinitätschromatographie) (s. Ref. 89)**

Da Antiseren neben den spezifischen Immunglobulinen, die gegen YY1 gerichtet sind, noch weitere Antikörper enthalten, soll mittels einer Affinitätschromatographie die Aufreinigung erfolgen. YY1 wird dabei an eine feste Matrix gebunden. Nur Antikörper, die spezifisch gegen YY1 gerichtet sind, binden. Alle anderen Antikörper passieren die Säule. Die spezifischen Antikörper werden durch pH-Wert Veränderung (auf 2,5 oder über 11) von YY1 eluiert.

Diese spezifisch aufgereinigten Antikörper gegen YY1 können dann in weiteren Schritten im ELISA-Verfahren oder Western blot genutzt werden.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher auch Antikörper, die gegen ein vorgenanntes Protein oder Peptid der Erfindung gerichtet sind. Vorzugsweise handelt es sich bei den Antikörpern um monoklonale Antikörper.

In diesem Zusammenhang dienen auch Sandwich-ELISA zum Antigen-nachweis, und geeignet ist auch der Nachweis spezifischer Antikörper gegen ein Antigen mittels enzymmarkierten Sekundärantikörpern.

#### **Etablierung der ELISA-Verfahren (s. Ref. 89)**

Nachweis spezifischer Antikörper gegen YY1 mittels enzymmarkierten Sekundärantikörpern

Synthetisch hergestellte YY1-Proteine werden an einen festen Träger (Kunststoffoberflächen, Mikrotiterplatte) gekoppelt. Anschließend wird das zu untersuchende Probandenmaterial (Serum) überschichtet. Spezifisch gegen YY1 gerichtete Antikörper im Serum befindlich, binden. Ungebundene Komponenten werden heruntergewaschen. Mittels eines Sekundärantikörpers, chemisch mit einem Enzym markiert, wird in der Farbreaktion das Substrat umgewandelt. Anhand eines mitgeführten Standars kann dann, nach Erstellung der Eichkurve, direkt mit der Antikörperfokonzentration korreliert werden.

## Sandwich-ELISA (Antigennachweis) (s. Ref. 89)

Die Antikörper, spezifisch gegen YY1 gerichtet, werden an einen festen Träger (Kunststoffoberflächen, Mikrotiterplatte) gebunden. Im Anschluß daran wird das Probandenmaterial überschichtet. Die YY1-Proteine binden spezifisch an den Antikörper. Ungebundene Komponente werden heruntergewaschen. Mittels monoklonaler Antikörper und eines Anti-Antikörpers (Enzym-markiert) wird die Menge an YY1-Proteinen ermittelt.

## Westernblot (s. Ref. 144)

Es wird davon ausgegangen, daß zwischen den Probanden, bedingt durch alternatives Spleißen oder bereits genetisch bedingt, sich die YY1-Proteine in ihrer Größe (Molekulargewicht) unterscheiden.

Daher kann mit Hilfe einer SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-Page) YY1-Proteine nach ihrer Größe aufgetrennt werden. Durch das SDS erhalten die Proteine negative Ladungen (SDS-Bindung). Nach dem gelelektrophoretischen Lauf wird das Trenngel auf eine immobilisierte Membran (Nitrozellulose) transferiert. Mittels spezifischer Antikörper gegen YY1 gerichtet und Alkalischer Phosphatase werden die Proteine angefärbt.

Gegenstand der Erfindung ist somit ein Verfahren zur Bestimmung der Neigung, an Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen (insbesondere, Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie), Typ-2-Diabetes, Krebs (insbesondere Lungenkrebs, Brustkrebs, Darmkrebs, u.a.) oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen zu erkranken, bei dem man genomische DNA aus isolierten mononukleären Blutzellen amplifiziert, sequenziert und man Änderungen oder Abweichungen

der Nukleinsäuresequenz, die für ein Protein mit der in SEQ ID NO:6 dargestellten Aminosäuresequenz kodiert, bestimmt, wobei Abweichungen von Codons (nicht-stille Mutationen) eine erhöhte Neigung anzeigen, an einer der vorgenannten Krankheiten zu erkranken.

Weitere Mutationen, die auf höhere Diabetesneigung hindeuten können, liegen in folgenden Sequenzbereichen und lassen sich unter Verwendung folgender Primer nachweisen: Intron 4: Primer: K815-F/K817-R; K815-F/K875; K821-F/K817-R; K821-F/K870-R; K874-F/K870-R. Zur Amplifikation verwendet man vorzugsweise die Primer K823-F/K825-R; K884-F/K806-R; K801-F/K804-R; K814-F/KK832-R; K828-F/K833-R; K831-F/K817-R; K815-F/K870-R; K815-F/K818-R; K816-F/K819-R; K834-F/K836-R, F15/R12; F15/R14; F15/R13; F57/R16; F57/R20; F57/R21; F59/RR25; F59/RR30; F59/R33; F95/R34; F96/R39; F95/R48; F95/R50; F60/R7; F60/R8; F60/R66; F60/R67; F96/R76; F96/R77; F96/R81 F96/R83; F33/R1; F33/R4; F33/R15; F39/R28; F40/R3; F41/R5; oder andere Kombinationen.

Ferner eingeschlossen ist ein Verfahren zur Bestimmung der Neigung, an Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen (insbesondere Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie), Typ-2-Diabetes oder Krebs (insbesondere Lungenkrebs, Brustkrebs, Darmkrebs, u.a.) oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen zu erkranken, bei dem man RNA aus isolierten mononukleären Blutzellen oder Gewebsbiopsien (Fettgewebe, Muskelgewebe, Haut) - bzw. Gewebspunktionen (Leber, Niere) isoliert, amplifiziert und quantifiziert, wobei eine erhöhte/verminderte Expression eine erhöhte/verminderte Neigung anzeigt, an Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen (insbesondere Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie), Typ-2-Diabetes, Krebs

(insbesondere Lungenkrebs, Brustkrebs, Darmkrebs, u.a.) oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen zu erkranken. (vgl. oben zu 'Genexpression').

## 2. Behandlung

### 2.1 Nutzung von DNA oder Antisense

Zur Abregulation von YY1 soll DNA oder Antisense von der vorliegenden Sequenz mittels PCR erzeugt und appliziert werden. Sowohl DNA als auch Antisense-Oligonukleotide werden modifiziert, um ihre Stabilität gegenüber den meisten Exo- und Endonukleasen zu erhöhen (168). Die Applikation der stabilisierten DNA oder Antisense erfolgt subkutan (s.c.) oder intramuskulär (i.m.). Die Dosis richtet sich nach der individuellen Expression von YY1, die in bestimmten Abständen geprüft werden soll, um eine ausgewogene Balance von YY1 im Hinblick auf andere Gene zu erreichen.

#### Antisense Oligonukleotide

Da die Antisense Oligonukleotide eine hohe Spezifität besitzen, können sie spezifisch binden, die RNA blockieren und somit die Expression verhindern. Die Antisense Oligonukleotide sollen im Abstand von 2 bis 20 Basen über die Sequenz verteilt werden. Dabei wird vorzugsweise bei Position 73 begonnen.

Wichtige Fragmente, bei denen mehrere Antisense-Oligonukleotide hergestellt wurden (immer um eine Position verschoben), sind: 73 bis 564, 565 bis 717, 718 bis 834, 835 bis 1071; 955 bis 999, 955 bis 1041, 1000 bis 1041, 1042-1125, 1759 bis 1848, 1849 bis 1938, 967 bis 1125, 1071 bis 1938 so-

wie die Intronsequenz 1126-1758. Die PCR-Amplifikation erfolgt wie beschrieben (12).

### Oligonukleotid-Modifikationen

Zur Verbesserung der Effizienz/Stabilität mit Hilfe von:

- 1.) Methylphosphonaten
- 2.) Phosphorothioaten
  - Nuclease-resistant, wasserlöslich, starke Hybrydisierung mit m-RNA
  - steigert RNase H Aktivität, die verantwortlich ist für den Abbau von m-RNA im Doppelstrang
- 3.) Phosphodithionate
- 4.) Polyamid-Rückgrat (PNA-DNA-Chimäre) statt Pentose-Phosphat (Uhlmann E., Peyman A., Breipohl G., Angew. Chem. 1998, 110, 2954-2983.)
  - Chimäre besser für die Zellaufnahme

Verbesserung der Transporteigenschaften mit Hilfe von:

- 1.) Alkylierung (Hydrophobie erhöht)
- 2.) Kopplung an Zucker

### Ribozyme

Ribozyme sind katalytische RNA, mit enzymatischen Eigenschaften (Phosphatester-Hydrolyse; Nobelpreis Chech/Altmann). Ribozyme erkennen bestimmte Basensequenzen in der mRNA und zerschneiden das Molekül an diesen Stellen. Sie haben demnach eine Doppelfunktion, das Erkennen einer bestimmten Struktur, dann hydrolytische Spaltung einer Phosphordiesterbindung an einer bestimmten Stelle. Zwei Klassen von Ribozymen haben be-

sondere Bedeutung. Solche mit einer hammerförmigen ("hammer-head")-Struktur und andere, die eine Haarnadel ("hairpin")-Struktur aufweisen. Die von den Ribozymen entwickelte Endonukleaseaktivität kann praktisch gegen alle RNA-Strukturen wirksam werden.

#### Triple-Helix-Bindung

Darüber hinaus soll ein dritter Nukleotidstrang an eine DNA-Doppelhelix über zusätzliche (Hoogsteen-) Basenpaarung gekoppelt werden. Damit entsteht ein Stück eines Dreifachstranges, das nicht mehr transkribiert werden kann. Die Positionen in der DNA sind abhängig von der Sequenzstruktur des Probanden.

Nachteil: Erkennung nur in Purin-reichen Regionen

Gegenstand der Erfindung ist daher auch die Verwendung einer vorgenannten Nukleinsäure oder eines Antisense-Oligonukleotids zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung. Die pharmazeutische Zusammensetzung dient insbesondere zur Behandlung von Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen (insbesondere Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie), Typ-2-Diabetes oder Krebs (insbesondere Lungenkrebs, Brustkrebs, Darmkrebs, u.a.) oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen.

Ferner betrifft die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine vorgenannte Nukleinsäure oder ein Antisense-Oligonukleotid sowie gegebenenfalls zusätzliche, pharmazeutisch verträgliche Hilfs- und/oder Trägerstoffe enthält. Die Zusammensetzungen sind vorzugsweise in einer zur intravenösen (i.v.), subcutanen (s.c.) oder intramuskulären (i.m.) Applikation geeigneten Form formuliert.

## 2.2 Nutzung des Proteins

Das Protein YY1 oder Peptide desselben werden synthetisiert, um appliziert werden zu können. Bevorzugte AS-Fragmente sind: 1 bis 165, 166 bis 215, 216 bis 254, 255 bis 323, 255 bis 302, 255 bis 309 (mit und ohne Mutation), 310 bis 323 (mit und ohne Mutation), 324 bis 351, 352 bis 381, 382 bis 411. Darüber hinaus wird der verkürzte BB.6S- Bereich von 299 bis 351 bevorzugt. In diesem Zusammenhang kann die für ein Protein mit der in SEQ ID NO:6 kodierende Nukleinsäuresequenz, insbesondere die Sequenz gemäß SEQ ID NO:5, oder Fragmente derselben in einen Expressionsvektor eingebracht und unter Bedingungen exprimiert werden, die für das gewählte Vektorsystem geeignet oder vorteilhaft sind. Entsprechende Verfahren sind dem Fachmann wohlbekannt.

Dabei stehen Modifikationen des Proteins oder der Peptide durch:

- a) Acetylierungen
- b) Deacetylierungen
- c) Methylierungen
- d) Phosphorylierungen
- e) O- und N- Glykosylierungen

im Vordergrund, um Stabilität und Aktivität zu erhöhen bzw. zu verändern.

Die Erfindung betrifft somit auch die Verwendung eines oder mehrerer der oben genannten Proteine und/oder Peptide zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung. Die pharmazeutische Zusammensetzung dient insbesondere zur Behandlung von Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen (ins-

besondere Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie), Typ-2-Diabetes oder Krebs (insbesondere Lungenkrebs, Brustkrebs, Darmkrebs, u.a.) oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen.

Eingeschlossen sind ferner pharmazeutische Zusammensetzungen, die ein oder mehrere der oben genannten Proteine und/oder Peptide enthalten, wobei die Proteine und Peptide gegebenenfalls wie oben beschrieben modifiziert sind. Die Zusammensetzungen enthalten gegebenenfalls zusätzliche, pharmazeutisch verträgliche Hilfs- und/oder Trägerstoffe und sind vorzugsweise in einer zur intravenösen (i.v.), subcutanen (s.c.) oder intramuskulären (i.m.) Applikation geeigneten Form formuliert.

#### **Spleißvarianten**

Darüber hinaus können alle möglichen Spleißvarianten (s. unten) mit Hilfe der im Rahmen der Erfindung untersuchten Sequenz erfaßt werden, um verschiedenste Proteine erzeugen zu können. Die Spleißvarianten unterschiedlicher Größe sind nachfolgend aufgezeigt. Diese Proteine werden vorzugsweise wiederum modifiziert (s. oben), um einen spezifischen Einsatz zu ermöglichen. Sie können entweder einzeln auch in Kombination eingesetzt werden.

Potentielle Spleißvarianten (<http://www.itba.mi.cnr.it>)

#### **DONOR SITES:**

POSITION	EXON	INTRON	SCORE
157	GAG	GTGGAG	78.
379	GAG	GTGATT	85.
406	GAG	GTAGTG	81.
409	GTA	GTGGGT	81.
475	CCG	GTACCC	75.
668	CCG	GTAATA	80.
694	CAG	GTGCAG	78.

1129	CAG GTAGAG	79.
1172	CTG GTCAGG	83.
1214	GGG GTATTT	73.
1273	CAG GTGTTA	77.
1363	GTA GTGAGT	80.
1370	GTA GTGTGT	72.
1423	CAG GTGACA	84.
1453	CTC GTGAGT	79.
1605	CCA GTGTGT	78.
1671	ATA GTAGGT	80.
1675	TAG GTGGTT	77.
1693	GCA GTGAGC	79.
2172	AAG GTGTTT	78.

ACCEPTOR SITES:

POSITION	INTRON EXON	SCORE
31	CTCCCGCAG CCCA	87.
36	GCAGCCCAG GAGC	85.
335	GCGCTGCAG CCGC	78.
747	GGTCTTCAG ATGA	80.
882	ACCTCTCAG ACCC	80.
1036	CGGTCCCAG AGTC	78.
1053	TCTGTGCAG AATG	77.
1274	GGACTGCAG GTGT	80.
1333	TTCTAGCAG GTTT	79.
1365	GTTTTGTAG TGAG	80.
1418	TGGCTACAG CTCC	77.
1424	CAGCTCCAG GTGA	81.
1447	TGCTTATAG AAGA	80.
1510	ACTTCCTAG AGTG	81.
1572	TTTCTCAAG AACT	84.
1713	GATCCCCAG GTTC	80.
1734	TTTGCCAAG AGGG	78.
1763	CCTTGACAG TGCA	85.
1989	CCTCTTCAG GAGT	79.
2037	TATTTCTAG GAAG	83.

Die Spleißvarianten werden durch entsprechende Restriktionsenzyme erhalten. Die Verwendung der Spleißvarianten hängt von der individuellen Situation der Probanden ab.

**Antikörper**

Darüber hinaus werden monoklonale Antikörper für Bereiche des YY1-Proteins erzeugt und zur Abregulation verwendet. Auch

hierbei sind die Antikörper der individuelle Situation anzupassen.

### 2.3 Erhöhung der YY1-Expression

Die gesamte DNA-Sequenz oder Teilsequenzen von YY1 (Positionen 73 bis 564, 565 bis 717, 718 bis 834, 835 bis 1071; 955 bis 999, 955 bis 1041, 1000 bis 1041, 1042-1125, 1759 bis 1848, 1849 bis 1938, 967 bis 1125, 1071 bis 1938 sowie die Intronsequenz 1126-1758), die sich nach der individuellen Situation der Probanden richtet, werden in Plasmiden unter Kontrolle eukaryotischer, gewebsspezifischer Promotoren kloniert und zur Langzeitexpression von YY1 an sich oder seiner Teilsequenzen appliziert, um eine gewebsspezifische Erhöhung der Expression von YY1 oder seiner Teilsequenzen zu erreichen. Die Vektorsysteme werden entsprechend dem Stand der Technik eingesetzt(169).

### 2.4. Regulation anderer Gene durch YY1-Antisense

Angesicht der Multifunktionalität von YY1 wurde Antisense-DNA von YY1 mit den in der Genbank vorhandenen Sequenzen auf Übereinstimmung mit anderen Genen geprüft (siehe Figur 13; die angegebenen Positionen (Nummerierungen) beziehen sich auf den kodierenden Bereich und nicht auf die Nukleotidnumerierung des Sequenzprotokolls). Diese entsprechenden Sequenzen sollen unter Nutzung von Kern-Lokalisationssignalen (NLS) mit Domänen von YY1 gezielt zur Beeinflussung dieser Gene (funktionelle Domäne) eingesetzt werden (vgl. Fig. 8).

Die Aktivierungsdomänen, Repressionsdomänen und Zinkfinger von YY1 sollen allein und in allen Kombinationsmöglichkeiten miteinander, mit der Antisense-DNA kreiert werden. Die Kombinati-

on ist abhängig vom Krankheitsbild, den betroffenen Organen und vom Geschlecht.

### **Kongene und transgene Tiere**

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurden ferner kongene nicht-menschliche Säuger, vorzugsweise Ratten, erzeugt, die eine für (das mutierte) YY1 gemäß SEQ ID NO:4 kodierende Nukleinsäuresequenz enthalten. Bei dem Säuger handelt es sich vorzugsweise um eine Ratte. Die Säuger sind durch eine erniedrigte Typ-1-Diabetesinzidenz charakterisiert. In gleicher Weise ist es möglich, transgene Säuger, vorzugsweise Ratten, zu erzeugen, die sich dadurch auszeichnen, dass sie ebenfalls eine für (das mutierte) YY1 kodierende Nukleinsäuresequenz (s.o.) enthalten.

Die Erfindung stellt ferner erstmals ein Verfahren zum Identifizieren diabetesprotektiver Wirkstoffe bereit, bei dem den vorgenannten Säugern potentielle Wirksubstanzen verabreicht werden und man überprüft, in wieweit die Neigung, Typ-1-Diabetes zu entwickeln, reduziert wird. Gegenstand der Erfindung ist somit auch die Verwendung eines transgenen oder kongenen nicht-menschlicher Säugers, dessen Keim- und somatische Zellen eine Nukleinsäure oder einen Nukleinsäureabschnitt enthalten, die/der für ein Protein mit der in SEQ ID NO:4 (SHR) gezeigten Aminosäuresequenz oder einer dazu homologen Aminosäuresequenz (s.o.) kodiert, wobei die homologe Aminosäuresequenz an Position 303 Methionin und an Position 311 Arginin aufweist, zum Identifizieren Diabetes-protektiver Substanzen.

Die Erfindung betrifft ferner transgene nicht-menschliche Säugер, insbesondere Ratten, deren Keim- und somatische Zellen eine Nukleinsäure oder einen Nukleinsäureabschnitt enthalten, die/der für ein Protein mit der in SEQ ID NO:2 gezeigten Aminosäuresequenz oder einer dazu homologen Aminosäuresequenz (s.o.) kodiert, wobei die homologe Aminosäuresequenz an Position 303 Arginin und an Position 311 Lysin aufweist.

#### Weitere Erfindungsgegenstände

Die Erfindung betrifft ferner weitere Gegenstände und Ausführungsformen, die sich für den Fachmann vor dem Hintergrund der vorliegenden Offenbarung mühelos erschließen.

In diesem Zusammenhang sind auch Vorrichtungen (Kits) zur Durchführung eines der vorgenannten (Screening-)Verfahren zu nennen.

Methoden

1. Tierhaltung
2. Erzeugung der kongenen BB.6S
  - 2.1. Erzeugung weiterer kongener Linien
3. Phänotypische Charakterisierung
  - 3.1. Diabetesinzidenz und Blutglukosebestimmung
  - 3.2. Lymphozyten-Phänotypen
  - 3.3 Blutdruck
4. Statistische Analyse
5. Molekularbiologische Methoden
  - 5.1. Isolierung Langerhansscher Inseln des Pankreas
  - 5.2. DNA-Isolierung
  - 5.3. RNA-Isolierung aus Geweben
  - 5.4. RT-PCR
  - 5.5. Sequenzierung von YY1
  - 5.6. Eluierung der zweiten Bande bei BB.6S
  - 5.7. Genexpressionsstudien
  - 5.8. RNA-Isolierung aus EDTA-Blut
6. Feinkartierung von YY1 (Sicherstellung, dass YY1 in dem diabetesprotektiven Bereich liegt)
7. Prüfung des Polymorphismus im Intron 3 unter Nutzung weiterer Ratten-Stämme
8. Weitere Untersuchungen in vitro
9. Weitere Untersuchungen in vivo
10. Primerbedingungen bei der Sequenzierung
11. Mikrosatellitenmarker

## 1. Tierhaltung

Die Tiere wurden unter Semibarrierefürbedingungen gehalten und hatten freien Zugang zu Pelletfutter (Ssniff R-Zucht, Spezialitäten GmbH, Soest) sowie Wasser (pH 2,5 - 3).

Die Tiere wurden unter einem 12 Stunden Rhythmus gehalten (12h Licht, 12h Dunkelheit). In einem Käfig befanden sich maximal 3 Tiere.

Alle tierexperimentellen Arbeiten erfolgten unter Einhaltung der gültigen Tierschutzbestimmungen.

## 2. Erzeugung der kongenen BB.6S

Käuflich erworbene, männliche SHR/Mol-Ratten (Mollegaard Breeding Ltd, Dänemark) wurden mit diabetischen BB/OK-Weibchen gekreuzt. Die resultierenden F1-Hybriden wurden auf diabetische BB/OK-Ratten insgesamt 7 mal rückgekreuzt. Die Nachkommen jeder Rückkreuzungsgeneration wurden auf Heterozygotie in dem interessierenden chromosomalen mittels PCR-analysierter Mikrosatellitenmarker, die die interessierenden Bereiche flankieren, genetisch analysiert. Die für diesen Bereich heterozygoten Tiere wurden dann für die Erzeugung der nächsten Rückkreuzungsgeneration angepaart. Für den chromosomalen Bereich heterozygoten Tiere der 7 Rückkreuzungsgeneration wurden dann untereinander (intercross) gekreuzt und erneut genetisch analysiert. Zunächst wurden alle Tiere, die für den interessierenden chromosomalen Bereich homozygot für Allele der SHR-Ratten waren, selektiert. Diese Tiere wurden dann erneut mittels 139 PCR-analysierter Mikrosatellitenmarker, die etwa 96% des Genoms der Ratte abdecken, genetisch charakterisiert. Tiere, die dann für diese 139 Marker homozygot für Allele der

BB/OK-Ratte waren, wurden für die Etablierung (Founder) der kongenen Linien BB.SHR eingesetzt und phänotypisch charakterisiert.

Das Markerspektrum wurde erweitert, um einerseits den genetischen BB/OK-Background abzusichern (s. Material&Methoden-Teil) und um andererseits möglichst Rekombinationen in kleinen Bereiche erkennen zu können: D6Rat3-D6Rat1-D6wox13-D6Rat101-Ighe/Ckb-D6Mgh2-D6Rat94-D6Rat183-D6Rat10-D6Rat7-D6Rat75-D6Rat9-D6Rat6-D6Rat160-D6Mgh9-D6Rat184.

Diese Linien wurden für die Weiterzucht zwecks Minimierung der Diabetes-protektiven Region eingesetzt. Durch die Etablierung verschiedener subkongener Linien (BB.6Sa-f) mit dem Phänotyp der BB.6S-Ratte, wurde der in Frage kommende chromosomal Bereich auf < 2 cM (30-40 Gene) eingegrenzt.

Kartierung des diabetesprotektiven Gens um den Locus D6Mgh2.

Tabelle 2:

cM		BB.6S	BB.6a	BB.6b	BB.6c	BB.6d	BB.6e	BB.6f
2.1	D6Mgh4	BB						
	D6Rat13	BB						
4.4								
	D6Wox5	BB						
1.5	D6Rat66	BB						
2.0	D6Rat184/ D6Mgh9	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
0.8	D6Rat160	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
1.3	D6Rat6	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
	D6Rat9	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
0.4	D6Rat75	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	

69

0.4	D6Rat7	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
2.1	D6Rat10	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
1.6	D6Rat183	SHR	BB	SHR	BB	BB	BB	SHR
0.4	D6Rat94	SHR	BB	SHR	BB	BB	BB	SHR
1.9	D6Mgh2	SHR	SHR	SHR	BB	BB	BB	SHR
Ighe	SHR	SHR	BB	SHR	SHR	SHR	SHR	SHR
1.7	Ckb/	SHR	SHR	BB	SHR	SHR	BB	SHR
D6Rat101								
1.0	D6Rat1	SHR	SHR	BB	BB	BB	SHR	BB
1.9	D6Rat3	SHR	SHR	BB	BB	SHR	SHR	BB
	Diabete- sinzidenz	15%	10%	22%	>50%	>50%	>50%	14%

### 2.1. Erzeugung weiterer kongener Linien

BB.K(arlsburg)W(ild)R(atte)-Ratten

Neben diabetesresistenten SHR-Ratten wurden auch Wildfangratten zur Erzeugung von kongenen BB.K(arlsburg)W(ild)R(atte)-Ratten verwendet. Analog der BB.6S-Linie wurde der gleiche chromosomal Bereich der BB/OK von 15 cM durch den von Wildfangtieren ausgetauscht (BB.6W).

siehe Herstellung kongener Ratten-Linien unter Punkt 2.

### 3. Phänotypische Charakterisierung

Die Körpermasse wurde von nichtdiabetischen Ratten in der zwölften Woche bestimmt. (Waage NAGEMA, VEB Wägetechnik Rapido, Wägebereich 1-1000g, e=0,1g).

Zusätzlich wurden zu diesem Zeitpunkt die Blutglucose, das Serum Insulin, Plasma-Cholesterol und die Triglyceride bestimmt. Blutproben wurde durch Punktion des Augenplexus nach An-

ästesie mit Isoflurane (Abbott, Wiesbaden, Deutschland) durchgeführt.

Die Blutfette wurden über eine automatische Analyse (Roche Cobas Mira Plus, Roche, Schweiz) durchgeführt.

Das ELISA-Verfahren (Rat Insulin ELISA, Mercodia AB, Uppsala, Schweden) diente zur Bestimmung der Serum-Insulin-Konzentration.

### 3.1. Diabetesinzidenz und Blutglukosebestimmung

Die Diabetesinzidenz der Stämme wurde longitudinal in einer Inzuchtgeneration ermittelt. Dazu wurde vom 50. - 200. Lebenstag zweimal wöchentlich mittels Teststreifen (Diaabur-Test 5000, Boehringer, Mannheim, Deutschland) auf Glukosurie getestet und im positiven Fall der Blutzucker bestimmt (Analyzer ESAT 6660-2, Prüfgerätewerk Medingen GmbH). Wenn innerhalb von 2 Tagen zweimal eine Hyperglykämie (Blutglukose >15 mmol/l entspricht > 300mg/dl) nachgewiesen wurde, galten die Ratten als diabetisch.

### 3.2. Lymphozyten-Phänotyp

Die Lymphozytenisolation von nichtdiabetischen Ratten erfolgte über Dichtgradientenzentrifugation unter Nutzung von Histopaque-1083 (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland).

Die Messung erfolgte über eine Zwei-Farben Immunfluoreszenz-Technik. (EPICS Profile II Flow Cytometer (Coulter, Hialeah, USA)).

Für die Phänotypisierung wurde eine Mindestanzahl von 0,5 x 10<sup>6</sup> Zellen festgelegt. Folgende monoklonale Antikörper wurden benutzt:

Zellen	mAK	Firma
T-Zellen	R73-FITC	Medizinische Hochschule, Hannover, Deutschland
T-Zellen	3G2-FITC	Medizinische Hochschule, Hannover, Deutschland
B-Zellen	OX33-FITC	Pharmigen, Heidelberg, Deutschland
NK-Zellen	10/78-FITC	Pharmigen, Heidelberg, Deutschland
TH-Zellen	W3/25-FITC	Serotec, Eching, Deutschland
Ts/c-Zellen	341-FITC	Pharmigen, Heidelberg, Deutschland
akt.T-Zellen	OX39-PE	Pharmigen, Heidelberg, Deutschland
TH1/TH2-like Zellen	OX-22-PE	Pharmigen, Heidelberg, Deutschland
	W3/25-FITC	Serotec, Eching, Deutschland

### 3.3. Blutdruck

Der systolische Blutdruck wurde im Alter von 12 bis 14 Wochen zwischen 9.00 bis 11.00 Uhr über die Schwanz-Methode gemessen (Kent Scientific Corporation, Kent, England). Drei separate Punkte wurden benutzt, um einen Endwert zu erhalten.

### 4. Statistische Analyse

Die Berechnung der Mittelwerte und der Standardfehler (SD) erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS. Die Signifikanzen wurden mittels ANOVA Analyse berechnet.

## 5. Molekularbiologische Methoden

### 5.1. Isolierung Langerhansscher Inseln des Pankreas

Die Isolierung der Langerhanschen Inseln erfolgte mittels Kollagenaseverdau (Biochrom) und Dextran-Dichtegradientenzentrifugation (Dextran, Fluka, Schweiz). Es wurden mindestens 3 und maximal 15 Pankreata pro Kollagenaseverdau eingesetzt.

Nach Entnahme der Pankreata wurden diese in die Kollagenaselösung (30 mg Kollagenase (Biochrom) gelöst in 40 ml Hank's Salzlösung (Sigma) bei 37°C für 10 min) überführt und mittels Handschütteln verdaut. Anschließend wurde mit Hanks' Salzlösung das Inselsediment dreimal gewaschen. Nach Abzentrifugation der Inseln (1900 U/min) wurde der Überstand dekantiert und mit Dextranlösung (11 g Dextran/39 ml Hank's Salzlösung) aufgewirbelt. Die Inselemulsion wurde anschließend mit 3 weiteren Dichtegradienten von jeweils 4 ml überschichtet. Nach 20-minütiger Zentrifugation (1900 U/min) erfolgte die Handlesung der Inseln unter dem Mikroskop. Zur Genexpressionsanalyse wurden jeweils 500 Langerhanssche Inseln eingesetzt.

### 5.2. DNA-Isolierung

Die Isolierung der genomische DNA aus Lebergewebe wurde nach Vorschrift des Herstellers (Wizard®, Genomic DNA Purification Kit, Promega) durchgeführt.

### 5.3. RNA-Isolierung aus Geweben

Die RNA-Isolierung erfolgte nach den Angaben des Herstellers (RnEasy Mini Kit, Qiagen).

### 5.4. RT-PCR

Die Umschreibung der RNA in ssDNA (cDNA) erfolgte mit dem Reversen Transcription System der Firma Promega.

Für die Umschreibung wurde die RNA-Konzentration (Photometer, Eppendorf) auf 1,5 µg eingestellt.

Die 1,5µg RNA wurden mit 1µl Random-Hexamerprimer (Promega) versetzt und anschließend auf 13,5µl Endvolumen mit Rnase freiem Wasser (Promega) aufgefüllt. Anschließend wurde dieser RNA-Mix für 5 min bei 65°C erhitzt und danach auf Eis für eine Minute abgekühlt. Nach Zugabe des RT (Reverse Transkriptase) - Mixes (6,5 µl) erfolgte die Umschreibung im Cycler (Thermocycler, Techne, Cambridge) nach folgendem Programm:

50 min 42°C

10 min 70°C

#### RT-Mix enthält:

Volumen	Komponenten	Firma
+ 4µl	5x MMLV-Puffer	Promega
+ 1µl	10mM dNTP's	Promega
+ 0,5µl	rRNasin	Promega
+ 1µl	MMLV-Reverse Transkriptase	Promega
6,5µl	Endvolumen	

Nach Beendigung des Cycler-Programmes wurde die ssDNA mit 50µl bidest-Wasser versetzt.

Die ssDNA wurde für die Expressionsstudien sowie für die Sequenzierung genutzt.

### 5.5. Sequenzierung von YY1

Zur Sequenzierung des Gens wurde genomische DNA aus Lebergewebe (Wizard®, Genomic DNA Purification Kit, Promega) und RNA aus isolierten Langerhansschen Inseln, Pankreas, Leber und Gehirn der BB/OK-, SHR- und BB.6S-Ratte gewonnen (Rneasy Mini Kit, Qiagen). RNA wurde dann in ssDNA bzw. cDNA (siehe Pkt. 5.4) nach Angaben des Herstellers umgeschrieben (Reverse Transcription System, Promega). Sowohl genomische als auch cDNA wurde mittels PCR (Einsatz von GeneAmp® High Fidelity PCR System, Applied BioBiosystems) unter Verwendung verschiedener Primer so amplifiziert, daß überlappende Genprodukte zur Sequenzierung zur Verfügung standen (vgl. Fig. 11; Promotor: K823-F/K825-R\*; Promotor und Exon 1: K884-F/K806-R; Exon 1: K801-F/K804-R; K814-F/KK832-R\*; Exon 2 und 3: K828-F/K833-R; K831-F/K817-R; Exon 4: K815-F/K870-R; K815-F/K818-R; K816-F/K819-R; K834-F/K836-R). Die PCR wurde wie folgt durchgeführt: 3min 94 °C, gefolgt von 35 Zyklen a 30sec 94 °C, 1 min 55 oder 60 °C (\*), 45 sec 72 °C mit anschließender Elongation von 3min bei 72 °C.

Die amplifizierten Genprodukte wurden nach Reinigung mit Amicon®Microcon-PCR-Zentrifälfiltern (Millipore, USA) für die Sequenzier-PCR verwandt. Die gereinigten PCR-Produkte (250 ng) wurden unter Verwendung von ABI PRISM® BigDye Terminators v3.0 Cycle Sequencing Kit nach Vorschrift des Herstellers (Applied Biosystems) amplifiziert (25 Zyklen: 10 sec. 96 °C, 4 min 60°C). Die amplifizierten Genprodukte wurden anschließend mit Alkohol gefällt, getrocknet, in Formamid (4 µl) und Loading Buffer (1µl) aufgenommen, 2 min bei 90 °C denaturiert und da-

nach mit dem ABI PRISM® 377 (Applied Biosystems) sequenziert. Die Sequenzauswertung, einschließlich der Erstellung der Proteinsequenz erfolgte mit der Sequenzanalysesystemsoftware v3.4.1 (Applied Biosystems, USA). Die Genprodukte wurden wiederholt sequenziert und analysiert, um Artefakte ausschließen zu können.

Die Prüfung der Sequenz mit der Genbank erfolgte online ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)).

#### 5.6. Eluierung der zweiten Bande bei BB.6S

Es wurde nach der gelelektrophoretischen Auftrennung die zweite Bande (Pankreas, Leber, Gehirn) herausgeschnitten und mit dem Wizard®PCR Preps DNA Purification System der Firma Promega eluiert. Nach Amplifizierung mit den Primern K831-F/K870-R erfolgte die Sequenzierung am ABI PRISM® 377 (Applied BioBiosystems (vgl. Fig. 12 und SEQ ID NO:7).

#### 5.7. Genexpressionsstudien

Aus gewonnener RNA von isolierten Langerhansschen Inseln, Pankreas, Leber, Gehirn, Thymus und Milz von 8 Tage alten Ratten der Inzuchttämme BB/OK, SHR, BB.6S und LEW („unbelastete“ Kontrolle) erfolgte die Umschreibung in ssDNA (siehe Punkt 5.4). Die optimalen PCR-Bedingungen wurden für jedes Primerpaar unter Verwendung von ssDNA diabetes-resistenter LEW-Ratten erarbeitet. Als Kontrollsituation (housekeeping gene) wurde die Genexpression von GAPDH zugrunde gelegt. Gewebsspezifische cDNA wurde mit den Primern für GAPDH (F: 5' TCCCTCAAGATTGTCAGCAA3'; R: 5' AGATCCACAAACGGATACATT3', Produktgröße = 308bp) und den YY1-Primern K801-F/KK804-R (Exon 1) und K831-F/K8818-R bzw. K831-F/K870-R (Zinkfinger) amplifi-

ziert. Die Genprodukte wurden gelelektrophoretisch aufgetrennt und die Expressionsstärke zwischen den Stämmen unter Berücksichtigung von GAPDH und Nutzung des Typhoon 8600 Variable Mode Imager (Amersham-Pharmacia Biotech, U.K.) quantifiziert.

### 5.8 RNA-Isolierung aus EDTA-Blut

Produkt	Firma
QIAamp® RNA Blood Mini Kit	QIAGEN

zusätzliche Nutzung von:

Produkt	Firma
QIAshredder	QIAGEN
RQ1-RNase free DNase	Promega

- ausführliche Anleitung im mitgelieferten QIAGEN Mini Handbook

### 6. Feinkartierung von YY1 (Sicherstellung, dass YY1 in dem diabetesprotektiven Bereich liegt)

Die Feinkartierung erfolgte mit Hilfe der Maus-Gensequenz. Anhand dieser Gensequenz könnten Primer hergestellt werden.

### 7. Prüfung des Polymorphismus im Intron 3 unter Nutzung weiterer Ratten-Stämme

Dazu wurden folgende Stämme, die unter gleichen Bedingungen wie BB.6S gehalten werden, benutzt: 2 Wildfangtiere (Wildtyp, M+W), jeweils 1 Tier von diabetes-resistenten, ingezüchteten DA/K, BN/Mol, LEW/K und WOKW-Ratten.

#### 8. Weitere Untersuchungen in vitro

Morphologische Untersuchungen des Pankreas von normo-glykämischen BB/OK- und BB.6S-Ratten (Lucke, S., Klöting, I., Pusch, A., Heinrich, H.W. and H.J. Hahn. Endocrine pancreas histology of congenic BB-rat strains with reduced diabetes incidence after genetic manipulation on chromosomes 4, 6 and X. Autoimmunity 36, 2003, 143-149).

Untersuchungen an isolierten Langerhansschen Inseln von BB/OK- und BB.6S- Ratten durch Variation der Ca-Konzentration im Kulturmedium.

Calbindin-D28k Proteinexpression mittels Westernblotanalyse unter Basalbedingungen und mit zunehmender Ca-Konzentration im Medium.

#### 9. Weitere Untersuchungen in vivo

Untersuchungen zur Frakturheilung bei BB/OK- und diabetes-resistenten LEW.1A-Ratten (38).

BB/OK und BB.6S-Ratten wurden mit Standarddiät (0,8% Ca), mit Ca-reicher (2%) und Ca-armen Diät (0,4%) ernährt (hergestellt von Ssniff R-Zucht, Spezialitäten GmbH, Soest) und bis zur 30. Lebenswoche auf Diabetesentwicklung beobachtet (nicht publiziert).

Verabreichung von Ca-Kanal-Blockern oder verschiedenen Ca-Antagonisten (Quercitin). (nicht publiziert)

## 10. Primerbedingungen bei der Sequenzierung

Für alle Primer gelten folgende Bedingungen:

Denaturierung: 3 min 94 °C  
 Annealing: 35 Zyklen a 30sec 94°C  
                   1 min 55 oder 60 °C (\*)  
                   45 sec 72 °C  
 Elongation: 3 min bei 72 °C.

## 11. Mikrosatellitenmarker

Chr.	Intern	<u>Marker</u>	<u>Gesamt</u>
1	R152	Igf2	
1	K6	D1Mgh10	
1	K7	D1Mgh12	
1	K57	D1Mgh7	
1	K58	D1Mit3	
1	K109	D1Mgh6	
1	K136	D1Mgh4	
1	K220	D1Mgh18	
1	K228	D1Mgh14	
1	K524	D1Rat249	
1	K526	D1Rat167	
1	K533	D1Rat60	
			12
2	K110	D2Mit8	
2	K111	D2Mgh9	
2	K138	D2Mit1	
2	K139	D2Mit4	
2	K140	D2Mit15	
2	K230	D2Mgh14	
2	K238	D2Mit7	
2 (5)	K280	D5Mgh7	
2	K374	D2Wox8	
2	K376	D2Wox34	
2	K384	D2Wox1	
			11
3	R142	Svs2p	
3	K63	D3Mit1	
3	K66	D3Mgh11	
3	K68	D3Mit10	
3	K386	D3Wox1	
3	K393	D3Wox16	
3	K395	D3Wox25	

4	R88	Il-6
4	K147	Eno
4	K215	Nos
4	K253	D4Mit9
4	K262	D4Mit16
4	K264	D4Mgh9
4	K267	D4Mgh11
4	K547	D4Rat9

8

5	R44	A2ug
5	Cjun	Cjun
5	K72	D5Mgh15
5	K151	D5Mgh5
5	K270	D5Mgh1
5	K404	D5Wox26
5	K412	D5Wox17

7

6	R99	Ckb
6	K73	D6Mgh4
6	K74	D6Mit5
6	K154	D6Mit1
6	K155	D6Mgh5
6	K156	D6Mit4
6	K158	D6Mit9
6	K159	D6Pas1
6	K284	D6Mgh2
6	K288	D6Mit8
6	K289	D6Mit2
6	K290	D6Mit3
6	K416	D6Wox2
6	K417	D6Wox17
6	K420	D6Wox10
6	K506	D6Kyo4
6	K549	D6Rat184
6	K554	D6Rat160
6	K556	D6Rat101
6	K557	D6Rat31
6	K625	D6Rat66

21

7	K26	D7Mit9
7	K77	D7Mit7
7	K162	D7Mgh7
7	K163	D7Mgh9
7	K300	D7Mit16
7	K427	D7Wox28
7	K428	D7Wox15
7	K435	D7Wox2

8

8	K84	D8Mit4
8	K116	D8Mit2
8	K117	D8Mgh11
8	K166	D8Mgh4
8	K437	D8Wox23
8	K444	D8Wox12
8	K560	D8Rat51

8

9	R27	Cryg
9	Inhb	Inhb
9	K87	D9Mit1
9	K88	D9Mgh2
9	K171	Aep2
9	K451	D9Wox20
9	K453	D9Mgh5

7

10	R126	Aep
10	Il-4	Il-4
10	K30	D10Mgh2
10	K32	D10Mit10
10	K119	D10Mgh6
10	K644	D10Rat4
10	K646	D10Rat8

7

11	R22	Smst
11	K39	D11Mgh5
11	K91	D11Mit2
11	K120	D11Mgh3
11	K459	D11Wox4
11	K516	D11Rat22

6

12	K42	D12Mit5
12	K179	D12Mit2
12	K182	D12Mgh4
12	K183	D12Mit4
12	K468	D12Wox15

5

13	Atpa	Atpa
13	K11	D13UW
13	K93	D13Mit1
13	K122	D13Mgh8
13	K189	D13Mgh7

5

14	R40	Alb
14	R130	Gck
14	K99	D14Mgh2
14	K100	D14Mgh1
14	K128	Csna
14	K130	D14Mgh3

14	K337	D14Mgh4
14	K584	D14Rat65
14	K588	D14Rat37
		9
15	K45	D15Mgh3
15	K102	D15Mgh6
15	K123	D15Mgh5
15	K482	D15Wox5
15	K483	D15Wox3
		5
16	K48	D16Mgh4
16	K49	D16Mit2
16	K170	D9Mgh1
16	K486	D16Wox7
		4
17	K35	D17Mgh3
17	K36	D17Mgh5
17	K104	D17Mit7
17	K105	D17Mit5
17	K491	D17Wox8
		5
18	R66	Olf
18	R98	Gjai
18	Mit9	D18Mit9
18	K12	D18Mgh3
18	K202	D18Mit4
18	K511	D18Kyol
18	K559	D18Rat44
		7
19	K206	D19Mit7
19	K569	D19Rat12
19	K572	D19Rat3
19	K575	D19Rat34
		4
20	R145	Tnf
20	K108	D20Mgh1
20	K127	Prkacn
		3
X	Mgh3	DXMgh3
X	K15	DXMgh1
X	R87	Pfkfb
X	R47	Ar
X	K657	DXRat17
X	K654	DXRat19
X	K661	DXRat103
X	K661	DXRat103
X	K364	DXWox29
X	K352	DXWox17
X	K359	DXWox24

	11
<b>Gesamt</b>	<b>160</b>

## Referenzen

- 1 She, J-X. and M.P. Marron. Genetic susceptibility factors in type 1 diabetes: linkage, disequilibrium and functional analyses. *Cur. Opin. Immunol.*, 10, 1998, 682-689
- 2 Morahan, G., Huang, D., Ymer, S.I. et al. Linkage disequilibrium of a type 1 diabetes susceptibility locus with a regulatory IL12B allele. *Nature Genet.* 27, 2001, 218-221
- 3 Klöting, I. and L. Vogt. BB/Ottawa K (arlsburg) rats: Features of a subline of diabetes-prone BB rats. *Diabetes Res.*, 1991, 18, 79-87
- 4 Lüdiger, F., Woltanski, K.P., Hamann, J. et al. Detection of antibodies against both isoforms of glutamate decarboxylase in BB/OK rats by western blotting and immuno trapping enzyme activity assay. *Diabetes Res.* 20, 1992, 97-107
- 5 Ziegler, B., Witt, S., Kohnert, K.D. et al. Characterization of monoclonal islet cell reactive autoantibodies from the diabetic Biobreeding (BB/OK) rat. *Acta Diabetol.* 30, 1993, 201-206
- 6 Schröder, D., Schmidt, S., Klöting, I. and B. Hehmke. Effect of syngeneic islet antigen administration on complement-dependent antibody-mediated cytotoxicity to islet cells and diabetes onset in diabetes-prone BB/OK rats. *Autoimmunity* 14, 1993, 283-289
- 7 Vogt, L. and I. Klöting. Genetic analysis of frequencies of phenotypes in the spontaneously diabetic BB rat- a main animal model of autoimmune type-I-diabetes. *Diabetes Res.*, 22, 1993, 105-113
- 8 Klöting, I., Stark, O. and U. Fischer. Incidence of diabetes in F2 and first backcross hybrids of BB rats of different origin. In: *Lessons from animal diabetes II*/Eds. Shafir, Renold, -London, Paris, J.Libbey, 1988, 85-87
- 9 Klöting, I., and Vogt, L. (1990). Coat colour phenotype, leucopenia and insulin-dependent diabetes mellitus in BB rats. *Diabetes Res.* 15, 37-39
- 10 Klöting, I., Stielow, M. and L. Vogt. Development of new animal models in diabetes research: spontaneously hypertensive-diabetic rats. *Diabetes Res.* 29, 1995, 127-138
- 11 Klöting, I. and P. Kovacs. Crosses between diabetic BB/OK and wild rats confirm that a 3<sup>rd</sup> gene is essential for diabetes development. *Acta Diabetol.* 35, 1998, 109-111
- 12 Klöting, I., Voigt, B. and P. Kovács. Comparison of genetic variability at microsatellite loci in wild rats and inbred rat strains (*Rattus norvegicus*). *Mamm. Genome.* 8, 1997, 589-591
- 13 Klöting, I., Vogt, L. and T. Serikawa. Locus on chromosome 18 cosegregates with diabetes in the BB/OK rat subline. *Diabet. Metab.* 21, 1995, 338-344
- 14 Klöting, I., S. Schmidt and P. Kovacs. Mapping of novel diabetes predisposing and protecting genes in the spontane-

ously diabetic BB/OK rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 245, 1998, 483-486

15 Klöting, I. and P. Kovacs. Phenotypic differences between diabetes-prone BB rat sublines cosegregate with loci on chromosomes X and 10. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 45, 1998, 865-870

16 Klöting, I. and P. Kovacs. Genes of the immune system cosegregate with the age at onset of diabetes in the BB/OK rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 242, 1998, 461-463

17 Klöting, I. and P. Kovacs. Loci of the immune system are implicated in diabetes frequency and age at onset of diabetes in BB rats. *J. Exp. Anim. Sci.* 41, 2000, 19-21

18 Klöting, I., Vogt, L., Reetz, I.C. et al. New congenic rat strains for the separate study of MHC and non-MHC genetic effects in the development of diabetes in BB rats. *Diabetes Res.* 15, 1990, 41-45

19 Voigt, B., Berg, S., Kovács, P. et al. Congenic spontaneously diabetic hypertensive BB.SHR rats. *Transplant. Proc.* 29, 1997, 1677-1678

20 Klöting, I., Kovacs, P. and B. Kuttler. Phenotypic consequences after restoration of lymphopenia in the diabetes-prone BB/OK rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 239, 1997, 106-110

21 Klöting, I. Voigt, B. and P. Kovacs. Metabolic features of newly established congenic diabetes-prone BB.SHR rat strains. *Life Sci.* 62, 1998, 973 - 979

22 Kovács, P. and I. Klöting. Congenic strain confirms putative quantitative trait locus for body weight in the rat. *Mamm. Genome* 9, 1998, 294-296

23 van den Brandt, J., Kovacs, P. and I. Klöting. Congenic diabetes-prone BB.Sa and BB.Xs rats differ from their progenitor strain BB/OK in frequency and severity of insulin-independent diabetes mellitus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 263, 1999, 843-847

24 Klöting, I., van den Brandt, J. and B. Kuttler. Genes of SHR rats protect spontaneously diabetic BB/OK rats from diabetes: Lessons from congenic BB.SHR rat strains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 283, 2001, 399-405

25 Podolin, P.L., Denny, P., Lord, C.J. et al. Congenic mapping of the insulin-dependent diabetes (idd) gene, Idd10, localises two genes mediating the Idd10 Effect and eliminates the candidate Fcgrl. *J. Immunology* 159, 1997, 1835-1843

26 Podolin, P.L., Denny, P., Armitage, N. et al. Localisation of two insulin-dependent diabetes genes to the Idd10 region on mouse chromosome 3. *Mamm. Genome* 9, 1998, 283-286

27 Lyons, P.A., Hancock, W.W., Denny, P. et al. The NOD Idd9 genetic interval influences the pathogenicity of insulitis and contains molecular variants of Cd30, Tnfr2, and Cd137. *Immunity* 13, 2000, 107-115

28 McDuffie, M. Derivation of diabetes-resistant congenic lines from the nonobese diabetic mouse. *Clinical Immunology* 96, 2000, 119-130

29 Norman, R. A., Dzielak, D. J., Bost, K. L. et al. Gallo-way. Immune dysfunction contributes to the aetiology of spontaneous hypertension. *J. Hypertens.* 3, 1985, 261-268

30 Fannon, L.D., Braylan, R. C. and M.I. Phillips. Alterations of lymphocyte populations during development in the spontaneously hypertensive rat. *J. Hypertens.* 10, 1992, 629-634

31 Ofosu-Appiah, W. and C. Ruggiero. Abnormal activation and loss of suppressor T cells in the spontaneously hypertensive rat. *Cell Immunol.* 145, 1992, 130-145

32 Klöting, I., van den Brandt, J. and B. Kuttler. Different and gradual protection from spontaneous diabetes by alleles of SHR and Wild rats in congenic BB.SHR and BB.KWR rat strains. 10<sup>th</sup> International Symposium on SHR and Molecular Medicine, 2.-4.5.2001, Berlin-Buch. *J. Mol. Med.* 79, 2001, B12, Abstr.

33 Watanabe, T.K., Bihoreau, M.T., McCarthy, L.C. et al. A radiation hybrid map of the rat genome containing 5,255 markers. *Nat. Genet.* 22, 1999, 27-36

34 Tomas, E., Lin, Y.S., Dagher, Z. et al. Hyperglycemia and insulin resistance: possible mechanisms. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 967, 2002, 43-51

35 Lawlor, M.A. and D.R. Alessi. PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin response. *J. Cell Sci.* 114, 2001, 2903-2910

36 Summers, S.A., Yin, V.P., Whiteman, E.L. et al. Signaling pathways mediating insulin-stimulated glucose transport. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 892, 1999, 169-186

37 Lucke, S., Klöting, I., Pusch, A., et.al. Endocrine pancreas histology of congenic BB-rat strains with reduced incidence after genetic manipulation on chromosomes 4,6 and X. *Autoimmunity* 36, 2003, 143-149

38 Follak, N., Klöting, I. Ganzer, D. et al. Scanning electron microscopic examinations on retarded bone defect healing in spontaneously diabetic BB/Ottawa/Karlsburg rats. *Histol. Histopathol.* 18, 2003, 111-120

39 Pondel, M. Calcitonin and calcitonin receptors: bone and beyond. *Int. J. Exp. Pathol.* 81, 2001, 405-422

40 Ahren, B. Autonomic regulation of islet hormone secretion- Implications for health and disease. *Diabetologia* 43, 2000, 393-410

41 Rabinovitch, A., Suarez-Pinzon, W.L., Sooy, K. et al. Expression of calbindin-D(28k) in a pancreatic islet beta-cell line protects against cytokine-induced apoptosis and necrosis. *Endocrinology* 142, 2001, 3649-3655

42 Sooy, K., Schermerhorn, T., Noda, M. et al. Calbindin-D(28k) controls (Ca<sup>2+</sup>)<sub>i</sub> and insulin release. Evidence

obtained from calbindin-d(28k) knockout mice and beta cell lines. *J. Biol. Chem.* 274, 1999, 34343-34349

43 Lee, J.S., See, R.H., Galvin, K.M. et al. Functional interactions between YY1 and adenovirus E1A. *Nucleic Acids Res.* 23, 1995, 925-931

44 Bushmeyer, S.M. and M.L. Atchison. Identification of YY1 sequences necessary for association with the nuclear matrix and for transcriptional repression functions. *J. Cell Biochem.* 68, 1998, 484-499

45 Galvin, K.M. and Y. Shi. Multiple mechanisms of transcriptional repression by YY1. *Mol. Cell Biol.* 17, 1997, 3723-3732

46 Houbaviy, H.B., Usheva, A., Shenk, T. et al. Cocrystal structure of YY1 bound to the adeno-associated virus P5 initiator. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93, 1996, 13577-13582

47 Lewis, B.A., Tullis, G., Seto, E. et al. Adenovirus E1A proteins interact with the cellular YY1 transcription factor. *J. Virol.* 69, 1995, 1628-1636

48 Yang, W.M., Inouye, C., Zeng, Y. et al. Transcriptional repression by YY1 is mediated by interaction with a mammalian homolog of the yeast global regulator RPD3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 1996, 12845-12850

49 Thomas, J.M. and E. Seto. Unlocking the mechanisms of transcription factor YY1: are chromatin modifying enzymes the key. *Gene* 236, 1999, 197-208

50 Shrivastava, A., Saleque, S., Kalpana, S. et al. Inhibition of transcriptional regulator Yin-Yang-1 by association with c-Myc. *Science* 262, 1993, 1889-1892

51 Austen, M., Luscher, B. and J.M. Luscher-Firzlaff. Characterization of the transcriptional regulator YY1. The bipartite transactivation domain is dependent of interaction with the TATA box-binding protein, transcription factor IIB, TAFII55, or c-AMP-responsive element-binding protein (CBP)-binding protein. *J. Biol. Chem.* 272, 1997, 1709-1717

52 Seto, E., Lewis, B. and T. Shenk. Interaction between transcription factor SP1 and YY1. *Nature* 365, 1993, 462-464

53 Lee, J.S., Galvin, K.M. and Y. Shi. Evidence of physical interaction between the zinc-finger transcription factors YY1 and SP1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1993, 6145-6149

54 Lee, J.S., Zang, X. and Y. Shi. Differential interaction of the CREB/ATF family of transcription factors with p300 and adenovirus E1A. *J. Biol. Chem.* 271, 1996, 17666-17674

55 Lee, J.S., Galvin, K.M., See, R.H. et al. Relief of YY1 transcriptional repression by adenovirus E1A is mediated by E1A-associated protein p300. *Genes Devel.* 9, 1995, 1188-1198

56 Hyde-DeRuyscher, R.P., Jennings, E. and T. Shenk. DNA binding sites for the transcriptional activator/repressor YY1. *Nucl. Acid Res.* 23, 1995, 4457-4465

57 Tauton, J., Hassig, C.A. and S.L. Schreiber. A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. *Science* 272, 1996, 408-411

58 Yang, W.M., Yao, Y.L., Sun, J.M. et al. Isolation and characterization of c-DNAs corresponding to an additional member of the human histone deacetylase gene family. *J. Biol. Chem.* 272, 1997, 28001-28007

59 Hassig, C.A. and S.L. Schreiber. Nuclear histone acetylases and deacetylases and transcriptional regulation: HATs off to HDACs. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 1, 1997, 300-308

60 Hassig, C.A., Tong J.K., Fleischer T.C. et al. A role of histone deacetylase activity in HDAC1-mediated transcriptional repression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 1998, 3519-3524

61 Shi, Y., Seto, E., Chang, L. et al. Transcriptional repression by YY1, a human GLI-Krueppel-related protein and relief of repression by adenovirus E1A protein. *Cell* 67, 1991, 377-388

62 Usheva, A. and T. Shenk. TATA-binding-protein-independent initiation: YY1, TFIIB and RNA polymerase II direct basal transcription on supercoiled template DNA. *Cell* 76, 1994, 1115-1121

63 Chiang, C.M. and R.G. Roeder. Cloning of an intrinsic human TFIID subunit that interacts with multiple transcriptional activators. *Science* 267, 1995, 531-536

64 Seto, E., Shi, Y. and T. Shenk. YY1 is an initiator sequence-binding protein that directs and activates transcription in vitro. *Nature* 354, 1991, 241-245

65 Kwok, R.P., Lundblad, J.R., Chrivia, J.C. et al. Nuclear protein CBP is a coactivator for the transcription factor CREB. *Nature* 370, 1994, 223-226

66 Yao, Y.L., Yang, W.M. and E. Seto. Regulation of the transcription factor YY1 by acetylation and deacetylation. *Mol. Cell Biol.* 17, 2001, 5979-5991

67 van den Brandt, J., Kovacs, P. and I. Klöting. Features of the metabolic syndrome in the spontaneously hypertriglyceridemic W(istar) O(ttawa)K(arlsburg)W(RT1<sup>u</sup>) rat. *Metabolism* 49, 2000, 1140-44

68 van den Brandt, J., Kovacs, P. and I. Klöting. Metabolic features in disease-resistant as well as in hypertensive SHR and newly established obese WOKW inbred rats. *Int. J. Obesity* 24, 2000, 1618-1622

69 Rosmalen, J.G., Leenen, P.J., Pelegri, C. et al. Islet abnormalities in the pathogenesis of autoimmune diabetes. *Trends. Endocrinol. Metab.* 13, 2002, 209-214

69b Nishiyama C., Yokota T., Nishiyama M. et al. Molecular cloning of the rat transcription factor YY1. *Biości. Biotechnol. Biochem.* 67, 2003, 654-658

70 Kolb, H. Benign versus destructive insulitis. *Diabetes Metab. Rev.* 13, 1997, 139-146

71 Foulis, A.K., Farquharson, M.A. and A. Meager. Immunoreactive alpha-interferon in insulin-secreting beta cells in type 1 diabetes mellitus. *Lancet* 2(8573), 1987, 1423-1427

72 Huang, X., Yuang, J., Goddard, A. et al. Interferon expression in the pancreas of patients with type 1 diabetes. *Diabetes* 44, 1995, 658-664

73 Foulis, A.K., McGill, M. and M.A. Farquharson. Insulitis in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in man: macrophages, lymphocytes, and interferon- $\gamma$  containing cells. *J. Pathol.* 165, 1991, 97-103

74 Yamagata, K., Nakajima, H., Tomita, K. et al. Dominant TCR  $\alpha$  chain clontypes and interferon- $\gamma$  are expressed in the pancreas of patients with recent-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 34, 1996, 37-46

75 Huang, X., Hultgren, B., Dybdal, N. et al. Islet expression of interferon- $\alpha$  precedes diabetes in both the BB rat and streptozotocin-treated mice. *Immunity* 1, 1994, 469-478

76 Campbell, I.L., Hobbs, M.V., Dockter, J. et al. Islet inflammation and hyperplasia induced by the pancreatic islet-specific overexpression of interleukin-6 in transgenic mice. *Am. J. Pathol.* 145, 1994, 157-166

77 DiCosmo, B.F., Picarella, D. and R.A. Flavell. Local production of human IL-6 promotes insulitis but retards the onset of insulin-dependent diabetes mellitus in non-obese diabetic mice. *Int. Immunol.* 6, 1994, 1829-1837

78 Wogensen, L., Lee, M. and N. Sarvetnick. Production of interleukin 10 by islet cells accelerates immune-mediated destruction of  $\beta$  cells in non-obese diabetic mice. *J. Exp. Med.* 179, 1994, 1379-1384

79 Moritani, M., Yoshimoto, K., Tashiro, F. et al. Transgenic expression of IL-10 in pancreatic islet A cells accelerates autoimmune diabetes in non-obese diabetic mice. *Int. Immunol.* 6, 1994, 1927-1936

80 Mueller, R., Krahl, T. and N. Sarvetnick. Pancreatic expression of interleucin-4 abrogates insulitis and autoimmune diabetes in non-obese diabetic (NOD) mice. *J. Exp. Med.* 184, 1996, 1093-1099

81 Rabinovitch, A. and W.L. Suarez-Pinzon. Cytokines and their roles in pancreatic islet  $\beta$ - cell destruction and insulin-dependent diabetes mellitus. *Biochem. Pharmacol.* 55, 1998, 1139-1149

82 Klöting, I., van den Brandt, J. and B. Kuttler. Genes of SHR rats protect spontaneously diabetic BB/OK rats from diabetes: Lessons from congenic BB.SHR rat strains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 283, 2001, 399-405

83 Guo, J., Casolaro, V., Seto, E., et al. Yin-Yang 1 acti-

vates interleukin-4 gene expression in T cells. *J. Biol. Chem.* 276, 2001, 48871-48878

84 Ye ,J., Cippitelli, M., Dorman, L. et al. The nuclear factor YY1 suppresses the human gamma interferon promoter through two mechanisms: inhibition of AP1 binding and activation of a silencer element. *Mol. Cell Biol.* 16, 1996, 4744-4753

85 Hänninen, A., Jalkanen, S., Salmi, M. et al. Macrophages, T-cell receptor usage, and endothelial cell activation in the pancreas at the onset of insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 90, 1992, 1901-1910

86 Kay, T.W.H., Campbell, I.L., Oxbrow, L. et al. Overexpression of class I major histocompatibility complex accompanies Insulitis in the non-obese diabetic mouse and is prevented by anti-interferon- $\gamma$ -antibody. *Diabetologia*, 34, 1991, 779-785

87 Garban, H.J. and B. Bonavida. Nitric oxide inhibits the transcription repressor Yin-Yang 1 binding activity at the silencer region of the Fas promoter: a pivotal role for nitric oxide in the up-regulation of Fas gene expression in human tumor cells. *J. Immunol.* 167, 2001, 75-81

88 Like, A.A., Butler, L., Williams, R.M. et al. Spontaneous autoimmune diabetes mellitus in the BB rat. *Diabetes* 31 (Suppl. 1), 1982, 7-13

89 Janeway, C.A. and P.Travers. *Immunologie*. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford.1997; 2 Auflage: 208-236.

90 Reizis, B. and P. Leder. Expression of the mouse Pre-T cell receptor  $\alpha$  Gene is controlled by an upstream region containing a transcriptional enhancer. *J. Exp. Med.* 189, 1999, 1669-1678

91 Iritani, B.M. and R.N. Eisenman. c-Myc enhances protein synthesis and cell size during B lymphocyte development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 1999, 13180-13185

102 Dang, C., Resar, L., Emison, E. et al. Function of the c-Myc oncogenic transcription factor. *Exp. Cell Res.*, 253, 1999, 63-77

103 Austen, M., Cerni, C., Luscher-Firzlaff, J.M. and B. Luscher. YY1 can inhibit c-Myc function through a mechanism requiring DNA binding of YY1 but neither its transactivation domain nor direct interaction with c-Myc. *Oncogene* 30, 1998, 511-520

104 Menssen, A. and H. Hermeking. Characterization of the c-Myc-regulated transcriptome by SAGE: Identification and analysis of c-Myc target genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 99, 2002, 6274-6279

105 Schwab, M., Varmus, H.E., Bishop, J.M. et al. Chromosome localisation in normal human cells and neuroblastomas of a gene related to c-Myc. *Nature* 308, 1984, 288-291

106 Nau, M.M., Brooks, B.J., Battey, J. et al. L-myc, a new myc-related gene amplified and expressed in human small cell lung cancer. *Nature* 318, 1985, 69-73

107 Sugiyama, A., Kume, A., Nemoto, K. et al. Isolation and characterization of s-myc, a member of the rat myc gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 86, 1989, 9144-9148

108 Asker, C., Steinitz, M., Andersson, K. et al. Nucleotide sequence of the rat B-myc gene. *Oncogene* 4, 1989, 1523-1527

109 Blackwell, T.K., Huang, J., Ma, A. et al. Binding of myc proteins to canonical and noncanonical DNA sequences. *Mol. Cell Biol.* 13, 1993, 5216-5224

110 Blackwood, E.M. and R.N. Eisenmann. Max: a helix-loop-helix zipper protein that forms a sequence-specific DNA-binding complex with Myc. *Science* 251, 1991, 1211-1217

111 Grandori, C., Cowley, S.M., James, L.P. et al. The Myc/Max/Mad network and the transcriptional control of cell behaviour. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 2000, 653-699

112 Klöting, I. and L. Vogt. Influence of age and metabolic state of mothers on the life expectancy of non-diabetic offspring in diabetes-prone BB/OK rats. *Proceedings of the Fifth FELASA Symposium*, Ed. Bunyan, J., 1994, 265-269

131 Stocco, D.M. Tracking the role of a STAR in the sky of the new millennium. *Mol. Endocrinol.* 15, 2001, 1245-1254

132 Nackley, A.C., Shea-Eaton, W., Lopez, D. et al. Repression of the steroidogenic acute regulatory gene by the multi-functional transcription factor Yin Yang 1. *Endocrinology* 143, 2002, 1085-1096

133 Christenson, L.K., Osborne, T.F., McAllister, J.M. et al. Conditional response of the human steroidogenic acute regulatory protein gene promoter to sterol regulatory element binding protein-1a. *Endocrinology* 142, 2001, 28-36

134 Ericsson, J., Usheva, A. and P.A. Edwards.. YY1 is a negative regulator of transcription of three sterol regulatory element-binding protein-responsive genes. *J. Biol. Chem.* 274, 1999, 14508-14513

135 Amemiya-Kudo, M., Shimano, H., Yoshikawa, T. et al. Promoter analysis of the mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene. *J. Biol. Chem.* 275, 2000, 31078-31085

136 Amemiya-Kudo, M., Shimano, H., Hasty, A.H. et al. Transcriptional activities of nuclear SREBP-1a, -1c. and -2 to different target promoters of lipogenic and cholesterogenic genes. *J. Lipid Res.* 43, 2002, 1220-1235

137 Shea-Eaton, W., Lopez, D. and M.P. McLean. Yin Yang 1 protein negatively regulates high-density lipoprotein receptor gene transcription by disrupting binding of sterol regulatory element binding protein to the sterol regula-

tory element. *Endocrinology* 142, 2001, 49-58

138 Bennett, M.K. and T.F. Osborne . Nutrient regulation of gene expression by the sterol regulatory element binding proteins: increased recruitment of gene-specific coregulatory factors and selective hyperacetylation of histone H 3 in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 2000, 6340-6344

139 Hasty, A.H., Shimano, H., Yahagi, N. et al. Sterol regulatory element-binding protein-1 is regulated by glucose at the transcriptional level. *J. Biol. Chem.* 275, 2000, 31069-31077

140 Sun, L., Halaihel, N. et al. Role of sterol regulatory element-binding protein 1 in regulation lipid metabolism and glomerulosclerosis in diabetes mellitus. *J. Biol. Chem.* 277, 2002, 18019-18927

141 Sewter, C., Berger, D., et al. Human obesity and type 2 diabetes are associated with alterations in SREBP 1 isoform expression that are reproduced ex vivo by tumor necrosis factor. *Diabetes* 51, 2002, 1035-1041

142 Hua, X., Yokoyama, C., Wu, J. et al. SREBP-2, a second basic-helix-loop-helix-zipper protein that stimulates transcription by binding to a sterol regulatory element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1993, 11603-11607

143 Lund, J. and H.F. DeLuca. Biologically active metabolite of vitamin D3 from bone, liver, and blood serum. *J Lipid Res* 7, 1966, 739-744

144 Löffler, G. and P.E. Petrides. *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1998; 6. Auflage: 657-659

145 Barker, A.R., McDonnell, D.P., Huges, M. et al. Cloning and expression of full length cDNA and coding human vitamin D receptor. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 85, 1988, 3294-3298

146 Brumbaugh, P.F. and Haussler M.R. Nuclear and cytoplasmatic binding components for vitamin D metabolites. *Life Sci* 1975; 16: 353-362.

147 DeLuca H.F. and m.T. Cantorna. Vitamin D: its role and uses in immunology. *FASEB J* 2001; 15: 2579-2585.

148 Guo B., Aslam F., van Wijnen A.J. et al. YY1 regulates vitamin D receptor/retinoid X receptor mediated transactivation of the vitamin D responsive osteocalcin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 121-126.

149 Raval-Pandya M., Dhawan P., Barletta F. et al. YY1 represses Vitamin D receptor mediated 25-Hydroxyvitamin D3 24-Hydroxylase transcription: relief of repression by CREB-binding protein. *Mol Endocrinology* 2001; 15: 1035-1046.

150 Kasuga H., Hosogane N., Matsuoka K. et al. Characterization of transgenic rats constitutively expressing vitamin D-24-hydroxylase gene. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 297(5): 1332-1338.

151 Chang T.J., Lei H.H., Yeh J.I. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms influence susceptibility to type 1 diabetes mellitus in the Taiwanese population. *Clin Endocrinology* 2000; 52: 575-580.

152 Li Y.C., Kong J., Wei M. et al. 1,25 Dihydroxyvitamin D3 is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin-system. *J Clin Invest* 2002; 110: 229-238.

153 Bhalla S.S., Robitaille L. and M. Nemer. Cooperative action by GATA-4 and YY1 of the cardiac b-type natriuretic peptide promotor. *2001 J Biol Chem* 276: 11439-11445.

154 Charron F. and M. Nemer. GATA transcription factors and cardiac development. *Semin Cell Dev Biol* 1999; 10(1): 85-91.

155 Vincent C.K., Gualberto A., Patel C.V. et al. Different regulatory sequences control creatine kinase-M gene expression in directly injected skeletal and cardiac muscle. *Mol Biol Cell* 1993; 13(2): 1264-1272.

156 Lee T.C., Zhang Y. and R.J. Schwartz. Bifunctional transcriptional properties of YY1 in regulating muscle actin and c-myc gene expression during myogenesis. *Oncogene* 1994; 9(4): 1047-1052.

157 Chen C.Y. and R.J. Schwartz. Competition between negative acting YY1 versus positive acting serum response factor and tinman homologue Nkx-2.5 regulates cardiac alpha-actin promotor activity. *Mol Endocrinol* 1997; 11(6): 812-822.

158 MacLellan W.R., Lee T.C., Schwartz R.J. et al. Transforming growth factor-beta response elements of the alpha-actin gene. Combinatorial action of serum response factor, YY1, and SV40 enhancer-binding protein, TEF-1. *J Biol Chem* 1994; 269(24): 16754-16760.

159 Patten M., Hartogenis W.F. and C.S. Long. Interleukin 1 $\beta$  is a negative transcriptional regulator of alpha1-adrenergic induces gene expression in cultured cardiac myocytes. *J Biol Chem* 1996; 271(35): 21134-21141.

160 Tan, T.P., Nonaka, K., Nuckolls, G.H., Liu, Y.H. , Maxson, R.E. , Slavkin, H.C. and L. Shum. YY1 activates Msx2 gene independent of bone morphogenetic protein signalling. *Nucl. Acids Res.* 30, 2002, 1213-1223

161 Lumsden, A. and R. Krumlauf. Patterning the vertebrate neuraxis. *Science* 274, 1996, 1109-1115

162 Chariot, A., Gielen, J., Merville, M.P. and V. Bours. The homeodomain-containing proteins: an update on their interacting partners. *Biochem. Pharmacol.* 58, 1999, 1851-1857

163 Bendall, A.J. and C. Abate-Shen. Roles for Msx and Dlx homeoproteins in vertebrate development. *Gene* 247, 2000, 17-31.

164 Liu, Y.H., Ma, L., Kundu, R., Ignelzi, M., Sangiorgi, F., Wu, L., Luo, W.,

Snead, M.L. and R. Maxson . Function of the Msx2 gene in the morphogenesis of the skull. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 785, 1996, 48-58

165 Cohen, M. M., Jr. Craniofacial disorders caused by mutations in homeobox genes MSX1 and MSX2. *J. Craniofac. Genet Dev. Biol.* 20, 2000, 19-25

166 Pan, Z., Lichtler, A.C. and W.B. Upholt. DNase I hypersensitive sites in the chromatin of the chicken Msx2 gene differ in anterior and posterior limb mesenchyme, calvarial osteoblasts and embryonic fibroblasts. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 46, 1998, 549-557

167 Donohoe, M.E., Zhang, X., McGinnis, L., Biggers, J., Li, E. and Y. Shi. Targeted disruption of mouse Yin Yang 1 transcription factor results in peri-implantation lethality. *Mol. Cell. Biol.* 19, 1999, 7237-7244

168 Jansen, B. and U. Zangemeister-Wittke. Antisense therapy for cancer-the time of truth. *Lancet Oncol.* 3, 2002, 672-683

169 Chen, Y. A novel single-stranded DNA expression vector. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2, 2002, 735-740

Patentansprüche:

1. Protein, dadurch gekennzeichnet, daß es die in SEQ ID NO:4 dargestellte Aminosäuresequenz aufweist.
2. Protein, das ein Homologes des Proteins nach Anspruch 1 ist und eine zu der in SEQ ID NO:4 dargestellten Sequenz homologe Aminosäuresequenz aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass das Protein an Position 303 Arginin und an Position 311 Lysin aufweist.
3. Protein nach Anspruch 2, das einen Homologiegrad von mindestens 95% aufweist.
4. Protein nach Anspruch 3, das einen Homologiegrad von mindestens 97% aufweist.
5. Protein nach Anspruch 3 oder 4, das einen Homologiegrad von mindestens 99% aufweist.
6. Peptid, dadurch gekennzeichnet, dass es ein Fragment des Proteins nach den Ansprüchen 1 bis 5 ist und eine Aminosäuresequenz aufweist, die den die Aminosäurepositionen 303 und 311 in SEQ ID NO:4 umfassenden Sequenzbereich enthält.
7. Peptid nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Länge von 53 bis 315 Aminosäuren aufweist.
8. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein für ein Protein oder ein Peptid nach den Ansprüchen 1 bis 7 kodiert.

9. Nukleinsäure nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass sie die in SEQ ID NO:3 dargestellte Nukleinsäuresequenz aufweist.
10. Nukleinsäure nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die den die Nukleinsäurepositionen 979-981 und 1003-1005 in SEQ ID NO:3 umfassenden Sequenzbereich enthält.
11. Antikörper, der gegen ein Protein oder Peptid nach den Ansprüchen 1 bis 7 gerichtet ist.
12. Antikörper nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass er ein monoklonaler oder polyklonalaler Antikörper ist.
13. Verfahren zur Bestimmung der Neigung, an Typ-1-Diabetes zu erkranken, dadurch gekennzeichnet, dass man genomische DNA aus isolierten mononukleären Blutzellen amplifiziert, sequenziert und man Änderungen oder Abweichungen der Nukleinsäuresequenz, die für ein Protein mit der in SEQ ID NO:6 dargestellten Aminosäuresequenz kodiert, bestimmt, wobei Abweichungen von Codons (nicht-stille Mutationen) eine erhöhte Neigung anzeigen, an einer Autoimmunerkrankung, Typ-2-Diabetes, Krebs oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen zu erkranken.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Amplifikation die Primer K815-F/K817-R; K815-F/K875; K821-F/K817-R; K821-F/K870-R; K874-F/K870-R; K823-F/K825-R; K884-F/K806-R; K801-F/K804-R; K814-F/KK832-R; K828-F/K833-R; K831-F/K817-R; K815-F/K870-R; K815-F/K818-R; K816-F/K819-R; K834-F/K836-R, F15/R12; F15/R14;

F15/R13; F57/R16; F57/R20; F57/R21; F59/RR25; F59/RR30; F59/R33; F95/RR34; F96/R39; F95/R48; F95/R50; F60/R7; F60/R8; F60/R66; F60/R67; F96/R76; F96/R77; F96/R81 F96/R83; F33/R1; F33/R4; F33/R15; F39/R28; F40/R3; oder F41/R5 verwendet.

15. Verfahren zur Bestimmung der Neigung, an Typ-1-Diabetes zu erkranken, dadurch gekennzeichnet, dass man RNA aus isolierten mononukleären Blutzellen oder Gewebsbiopsien isoliert, amplifiziert und quantifiziert, wobei eine erhöhte/verminderte Expression eine erhöhte/verminderte Neigung, an Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen, Typ-2-Diabetes, Krebs oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen zu erkranken, anzeigt.
16. Verwendung eines Proteins oder Peptids nach den Ansprüchen 1 bis 7 zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung.
17. Verwendung einer Nukleinsäure nach den Ansprüchen 8 bis 10 oder eines Antisense-Oligonukleotids zu derselben zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung.
18. Pharmazeutische Zusammensetzung, die eine Nukleinsäure nach den Ansprüchen 8 bis 10 oder ein Antisense-Oligonukleotid zu derselben enthält.
19. Pharmazeutische Zusammensetzung, die ein Protein und/oder ein Peptid nach den Ansprüchen 1 bis 7 enthält.
20. Zusammensetzung nach Anspruch 18 oder 19, dadurch gekennzeichnet, dass sie ferner pharmazeutisch verträgliche Hilfs- und/oder Trägerstoffe enthält.

21. Zusammensetzung nach den Ansprüchen 18 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung zur intravenösen Applikation formuliert ist.
22. Transgener nicht-menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß dessen Keim- und somatische Zellen eine Nukleinsäure oder einen Nukleinsäureabschnitt enthalten, die/der für ein Protein mit der in SEQ ID NO:2 gezeigten Aminosäuresequenz oder einer dazu homologen Aminosäuresequenz mit einem Homologiegrad von mindestens 95%, vorzugsweise mindestens 97% und besonders bevorzugt mindestens 99% kodiert, wobei die homologe Aminosäuresequenz an Position 303 Methionin und an Position 311 Arginin aufweist.
23. Transgener Säuger nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass er das Protein im Pankreas exprimiert.
24. Säuger nach Anspruch 22 oder 23, dadurch gekennzeichnet, dass er eine Ratte ist.
25. Verwendung eines transgenen oder kongenen nicht-menschlicher Säugers, dessen Keim- und somatische Zellen eine Nukleinsäure oder einen Nukleinsäureabschnitt enthalten, die/der für ein Protein mit der in SEQ ID NO:2 gezeigten Aminosäuresequenz oder einer dazu homologen Aminosäuresequenz mit einem Homologiegrad von mindestens 95%, vorzugsweise mindestens 97% und besonders bevorzugt mindestens 99% kodiert, wobei die homologe Aminosäuresequenz an Position 303 Methionin und an Position 311 Arginin aufweist, zum Identifizieren Diabetes-protektiver Substanzen.

26. Verwendung nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass der Homologiegrad mindestens 97% beträgt.
27. Verwendung nach Anspruch 25 oder 26, dadurch gekennzeichnet, dass der Homologiegrad mindestens 99% beträgt.
28. Kit zur Durchführung eines Verfahrens nach den Ansprüchen 13 bis 15.

Figur 1

Mensch

Histidin Cluster

GA und GK reiche Domäne

Zinkfinger

1 Austen et al. 1997<sup>a</sup>2 Bushmeyer et al. 1995<sup>b</sup>

3 Galvin and Shi 1997

4 Yang et al. 1996<sup>b</sup>

5 Shi et al. 1991

6 Lee et al. b 1995<sup>b</sup>

7 Lee et al. 1994

8 Lewis et al. 1995<sup>b</sup>9 Bushmeyer and Atchison 1998<sup>b</sup>

a Aktivierung und DNA-Bindungsdomänen überlappend

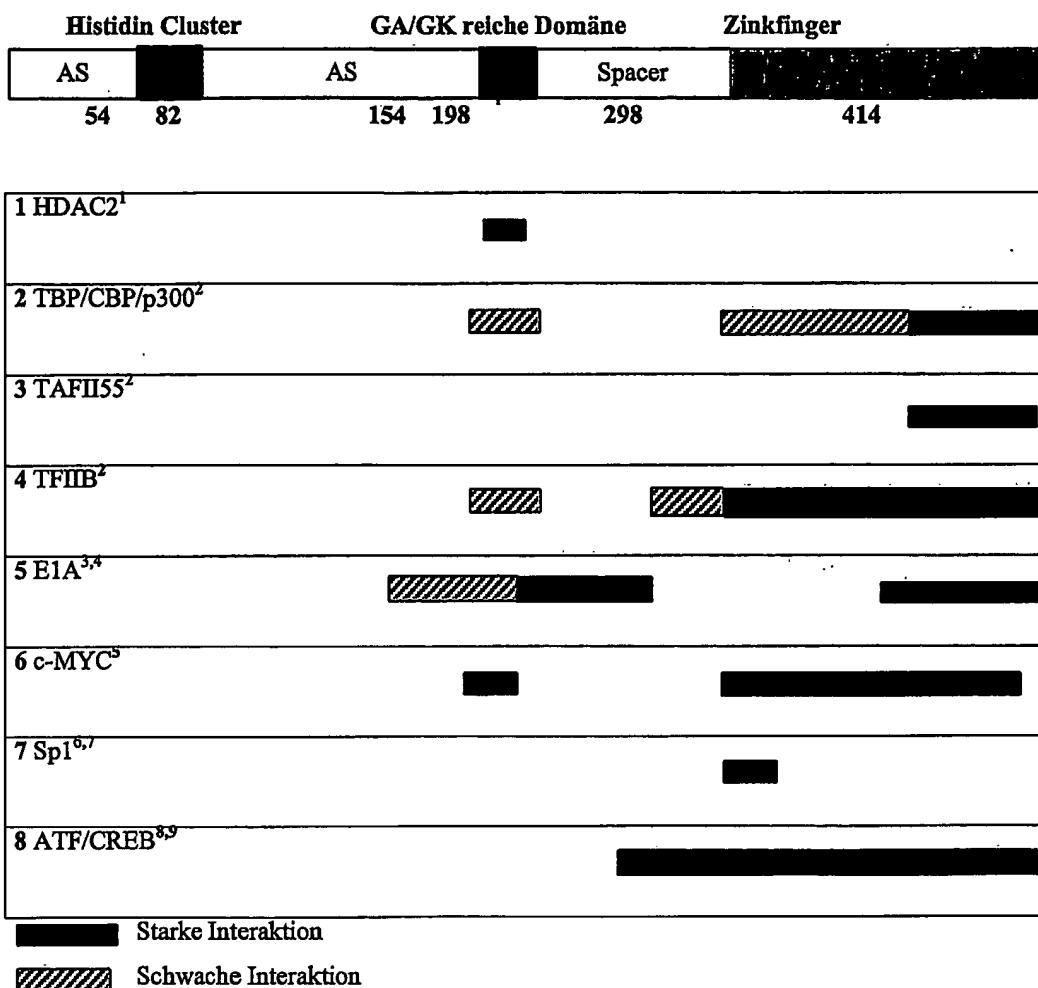
b Gal<sup>4</sup>DNA-Bindung Domän Fusion

Aktivierung

Repression

Figur 2

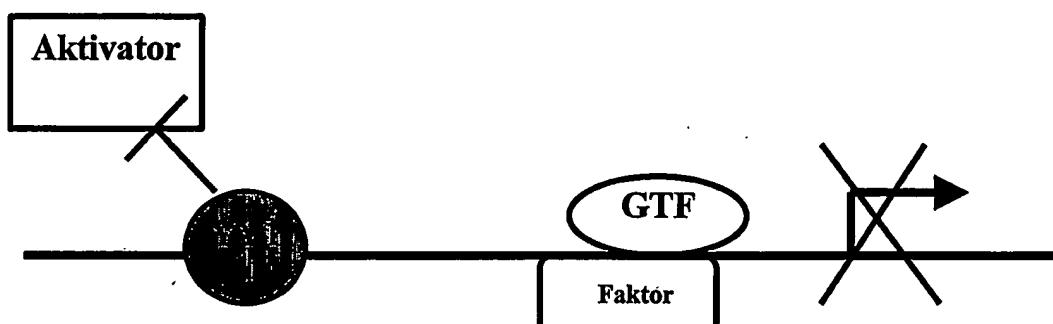
## Mensch



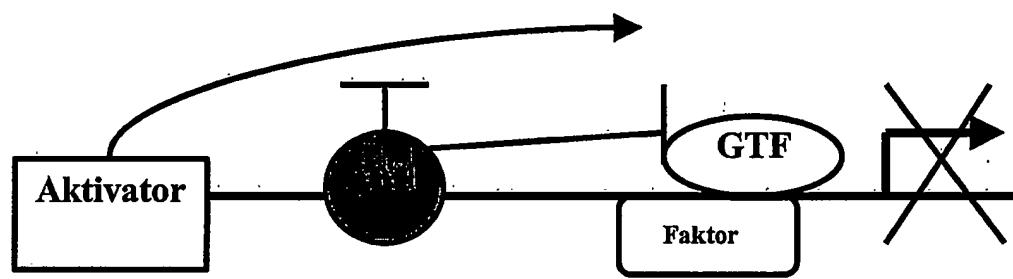
10/539535

Figur 3

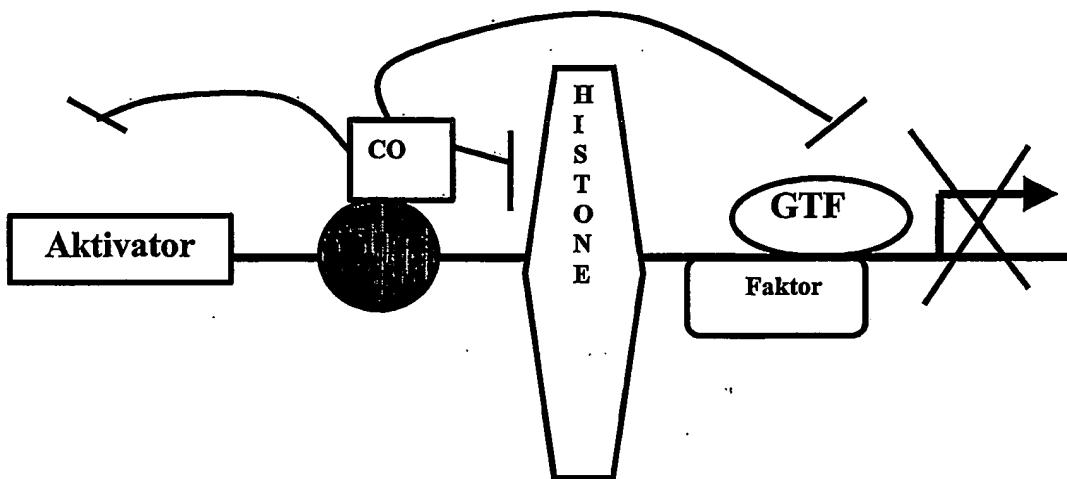
1



2



3



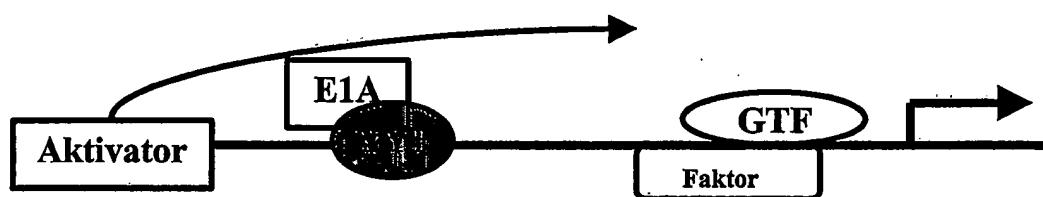
10/539535

Figur 4

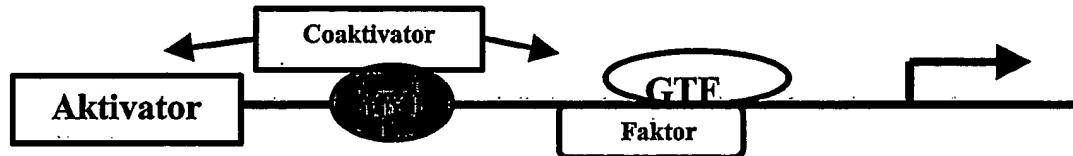
1

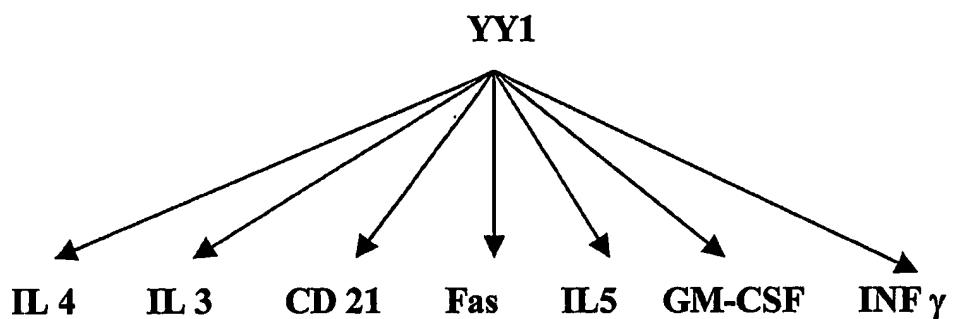


2

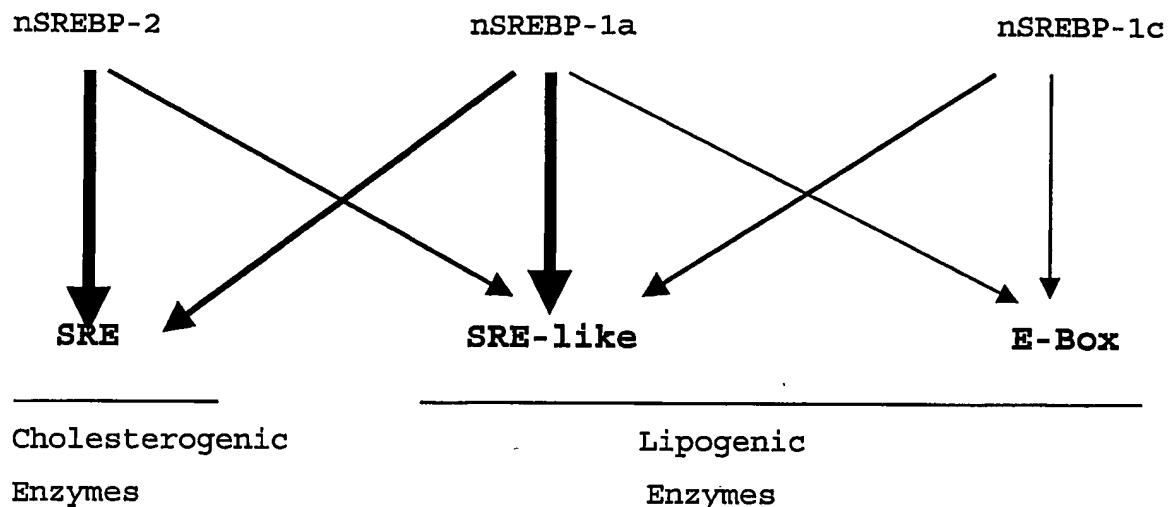


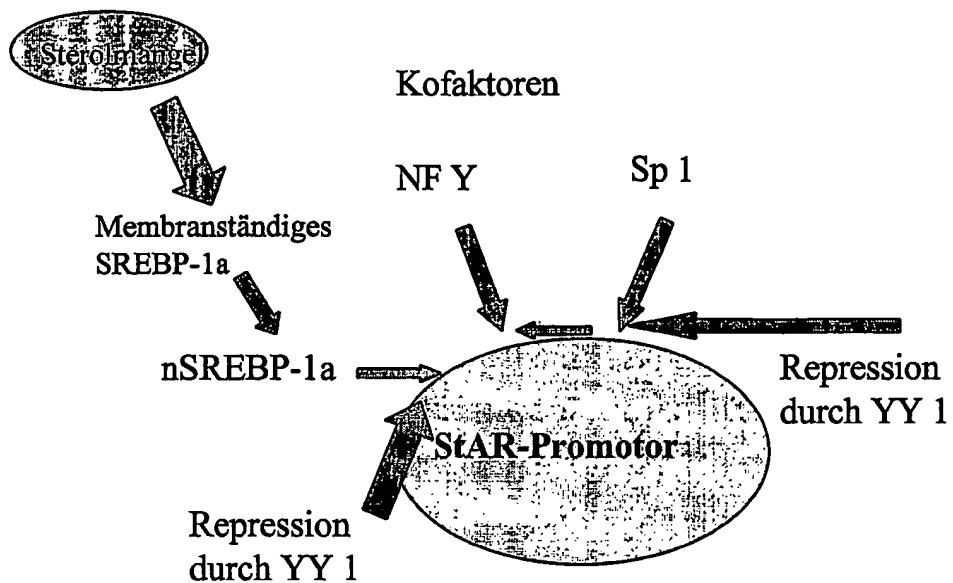
3

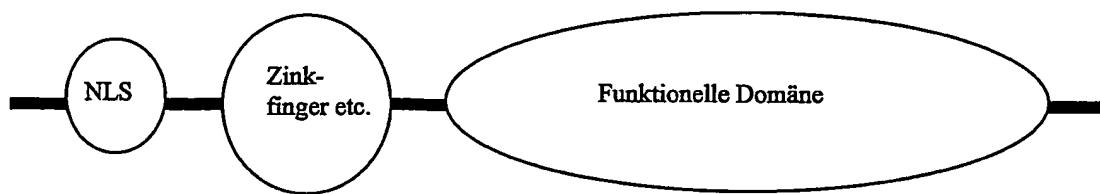


Figur 5

Aktivierung und Inhibierung durch YY1

Figur 6

Figur 7

Figur 8**10/539535**

Figur 9

## Sequenz- und Proteinvergleich

BB-Ratte                   CCGCCTCCTCGCCCGCCCTCCCGCAGCCCAGGAGCCGAGGCTGCCGCCGTGGCGGCG  
 SHR-Ratte                CCGCCTCCTCGCCCGCCCTCCCGCAGCCCAGGAGCCGAGGCTGCCGCCGTGGCGGCG  
 HOMO SAPIENS            GATTACGGCACGAGGGCGGCCGTGGCGGCG

GAGCCCTCAGCC ATG GCC TCG GGC GAC ACC CTC TAC ATT GCC ACG GAC GGC TCG GAG ATG  
 GAGCCCTCAGCC ATG GCC TCG GGC GAC ACC CTC TAC ATT GCC ACG GAC GGC TCG GAG ATG  
 GAGCCCTCAGCC ATG GCC TCG GGC GAC ACC CTC TAC ATT GCC ACG GAC GGC TCG GAG ATG

M	A	S	G	D	T	L	Y	I	A	T	D	G	S	E	M
M	A	S	G	D	T	L	Y	I	A	T	D	G	S	E	M
M	A	S	G	D	T	L	Y	I	A	T	D	G	S	E	M

CCA GCC GAG ATC GTG GAA CTG CAT GAG ATT GAG GTG GAG ACC ATC CCG GTG GAG ACT ATC  
 CCA GCC GAG ATC GTG GAA CTG CAT GAG ATT GAG GTG GAG ACC ATC CCG GTG GAG ACT ATC  
 CCG GCC GAG ATC GTG GAG CTG CAT GAG ATG GAG GTG GAG ACC ATC CCG GTG GAG ACT ATC

P	A	E	I	V	E	L	H	E	I	E	V	E	T	I	P	V	E	T	I
P	A	E	I	V	E	L	H	E	I	E	V	E	T	I	P	V	E	T	I
P	A	E	I	V	E	L	H	E	I	E	V	E	T	I	P	V	E	T	I

GAG ACC ACG GTG GTG GGC GAG GAG GAG GAC GAC GAC GAA GAC GAC GAG GAT GGT GGC GGC  
 GAG ACC ACG GTG GTG GGC GAG GAG GAG GAC GAC GAC GAA GAC GAC GAG GAT GGT GGC GGC  
 GAG ACC ACG GTG GTG GGC GAG GAG GAG GAC GAC GAC GAC GAG GAC GAC GAG GAC GGC GGC

E	T	T	V	V	G	E	E	E	D	D	D	E	D	D	E	D	G	G	G
E	T	T	V	V	G	E	E	E	D	D	D	E	D	D	E	D	G	G	G
E	T	T	V	V	G	E	E	E	E	D	D	D	E	D	D	E	D	G	G

GGA GAC CAC GGT GGC GGG GGC GGC CAC --- GGG CAC GCT GGC CAC CAC CAT CAC CAC CAC  
 GGA GAC CAC GGT GGC GGG GGC GGC CAC --- GGG CAC GCT GGC CAC CAC CAT CAC CAC CAC  
 GGC GAC CAC GGG GGC GGG GGC GGC CAC GGG CAC GGC GGC CAC CAC CAT CAC CAC CAC

G	D	H	G	G	G	G	G	H	-	G	H	A	G	H	H	H	H	H	H
G	D	H	G	G	G	G	G	H	-	G	H	A	G	H	H	H	H	H	H
G	D	H	G	G	G	G	G	G	H	G	H	A	G	H	H	H	H	H	H

CAC CAC CAC CAC --- CCG CCC ATG ATC GCG CTG CAG CCG CTG GTC ACC GAC GAC CCG  
 CAC CAC CAC CAC --- CCG CCC ATG ATC GCG CTG CAG CCG CTG GTC ACC GAC GAC CCG  
 CAC CAC CAC CAC CAC CCG CCC ATG ATC GCG CTG GAG CCG CTG GTC ACg GAC GAC CCG

H	H	H	H	-	-	P	P	M	I	A	L	Q	P	L	V	T	D	D	P
H	H	H	H	-	-	P	P	M	I	A	L	Q	P	L	V	T	D	D	P
H	H	H	H	H	H	P	P	M	I	A	L	Q	P	L	V	T	D	D	P

ACC CAA GTG CAC CAC CAC CAA GAG GTG ATT CTG GTG CAG ACG CGC GAG GAG GTA GTG GGT  
 ACC CAA GTG CAC CAC CAC CAA GAG GTG ATT CTG GTG CAG ACG CGC GAG GAG GTA GTG GGT  
 ACC CAA GTG CAC CAC CTC CAG GAG GTG ATC CTG GTG CAG ACG CGC GAG GAG GTG GTG GGG

T	Q	V	H	H	H	Q	E	V	I	L	V	Q	T	R	E	E	V	V	G
T	Q	V	H	H	H	Q	E	V	I	L	V	Q	T	R	E	E	V	V	G
T	Q	V	H	H	H	Q	E	V	I	L	V	Q	T	R	E	E	V	V	G

Figur 9 - 1. Fortsetzung

GGC GAC GAC TCG GAC GGG CTG CGC GCC GAG GAC GGG TTC GAG GAC CAG ATC CTC ATT CCG  
 GGC GAC GAC TCG GAC GGG CTG CGC GCC GAG GAC GGG TTC GAG GAC CAG ATC CTC ATT CCG  
 GGC GAC GAC TCG GAC GGG CTG CGC GCC GAG GAC GGC TTC GAG GAC GAG ATC CTC ATG CCG

G	D	D	S	D	G	L	R	A	E	D	G	F	E	D	Q	I	L	I	P
G	D	D	S	D	G	L	R	A	E	D	G	F	E	D	Q	I	L	I	P
G	D	D	S	D	G	L	R	A	E	D	G	F	E	D	Q	I	L	I	P

GTA CCC CGC CCG GCC GGC GGA GAC GAC GAC TAC ATC GAG CAG ACG CTG GTC ACC GTG GCG  
 GTA CCC CGC CCG GCC GGC GGA GAC GAC GAC TAC ATC GAG CAG ACG CTG GTC ACC GTG GCG  
 GTA CCC CGC CCG GCC GGC GGA GAC GAC GAC TAC ATC GAG CAG ACG CTG GTC ACC GTG GCG

V	P	A	P	A	G	G	D	D	D	Y	I	E	Q	T	L	V	T	V	A
V	P	A	P	A	G	G	D	D	D	Y	I	E	Q	T	L	V	T	V	A
V	P	A	P	A	G	G	D	D	D	Y	I	E	Q	T	L	V	T	V	A

GCG GCC GGC AAG AGC GGT GGC GGG TCT TCG TCG GGC GGC GGC CGC GTT AAG AAG GGC GGC  
 GCG GCC GGC AAG AGC GGT GGC GGG TCT TCG TCG GGC GGC GGC CGC GTT AAG AAG GGC GGC  
 GCG GCC GGC AAG AGC GGT GGC GGG GCG TCG TCG GGC GGC GGC GGT CGC GTG AAG AAG GGC GGC

A	A	G	K	S	G	G	G	S	S	S	G	G	G	R	V	K	K	G	G
A	A	G	K	S	G	G	G	S	S	S	G	G	G	R	V	K	K	G	G
A	A	G	K	S	G	G	G	S	S	S	G	G	G	R	V	K	K	G	G

GGC AAG AAG AGC GGC AAG AAG AGT TAC CTG GGC AGC GGG GCC GGC GCG GCG GGC GGT GGC  
 GGC AAG AAG AGT GGC AAG AAG AGT TAC CTG GGC AGC GGG GCC GGC GCG GCG GGC GGT GGC  
 GGC AAG AAG AGC GGC AAG AAG AGT TAC CTG GGC AGC GGG GCC GGC GCG GCG GGC GGT GGC

G	K	K	S	G	K	K	S	Y	L	G	S	G	A	G	A	A	G	G	G
G	K	K	S	G	K	K	S	Y	L	G	S	G	A	G	A	A	G	G	G
G	K	K	S	G	K	K	S	Y	L	G	G	G	A	G	A	A	G	G	G

GGC GCC GAC CCG GGT AAT AAG AAG TGG GAA CAG AAG CAG GTG CAG ATC AAG ACC CTG GAG  
 GGC GCC GAC CCG GGT AAT AAG AAG TGG GAA CAG AAG CAG GTG CAG ATC AAG ACC CTG GAG  
 GGC GCC GAC CCG GGT AAT AAG AAG TGG GAG CAG AAG CAG GTG CAG ATC AAG ACC CTG GAG

G	A	D	P	G	N	K	K	W	E	Q	K	Q	V	Q	I	K	T	L	E
G	A	D	P	G	N	K	K	W	E	Q	K	Q	V	Q	I	K	T	L	E
G	A	D	P	G	N	K	K	W	E	Q	K	Q	V	Q	I	K	T	L	E

GGC GAG TTC TCG GTC ACC ATG TGG TCT TCA GAT GAA AAA AAA GAT ATT GAC CAT GAA ACA  
 GGC GAG TTC TCG GTC ACC ATG TGG TCT TCA GAT GAA AAA AAA GAT ATT GAC CAT GAA ACA  
 GGC GAG TTC TCG GTC ACC ATG TGG TCT GAT GAA AAA AAA GAT ATT GAC CAT GAA ACA

G	E	S	V	T	M	W	S	S	D	E	K	K	D	I	D	H	E	T
G	E	S	V	T	M	W	S	S	D	E	K	K	D	I	D	H	E	T
G	E	S	V	T	M	W	S	S	D	E	K	K	D	I	D	H	E	T

GTG GTT GAA GAG CAG ATC ATT GGG GAG AAC TCA CCT CCT GAT TAT TCT GAA TAT ATG ACA  
 GTG GTT GAA GAG CAG ATC ATT GGG GAG AAC TCA CCT CCT GAT TAT TCT GAA TAT ATG ACA  
 GTG GTT GAA GAG CAG ATC ATT GGT GAG AAC TCA CCT CCT GAT TAT TCT GAA TAT ATG ACA

V	V	E	E	Q	I	I	G	E	N	S	P	P	D	Y	S	E	Y	M	T
V	V	E	E	Q	I	I	G	E	N	S	P	P	D	Y	S	E	Y	M	T
V	V	E	E	Q	I	I	G	E	N	S	P	P	D	Y	S	E	Y	M	T

10/539535

Figur 9 - 2. Fortsetzung

GGC AAG AAA CTC CCT CCT GGA GGG ATA CCT GGC ATT GAC CTC TCA GAC CCC AAG CAA CTG  
 GGC AAG AAA CTC CCT CCT GGA GGG ATA CCT GGC ATT GAC CTC TCA GAC CCC AAG CAA CTG  
 GGC AAG AAA CTC CCT CCT GGA GGG ATA CCT GGC ATT GAC CTC TCA GAC CCC AAG CAA CTG

G	K	K	L	P	P	G	G	I	P	G	I	D	L	S	D	P	K	Q	L
G	K	K	L	P	P	G	G	I	P	G	I	D	L	S	D	P	K	Q	L
G	K	K	L	P	P	G	G	I	P	G	I	D	L	S	D	P	K	Q	L

GCA GAA TTT GCC AGA ATG AAG CCA AGA AAA ATT AAA GAA GAT GAT GCT CCA AGA ACA ATA  
 GCA GAA TTT GCC AGA ATG AAG CCA AGA AAA ATT AAA GAA GAT GAT GCT CCA AGA ACA ATA  
 GCA GAA TTT GCC AGA ATG AAG CCA AGA AAA ATT AAA GAA GAT GAT GCT CCA AGA ACA ATA

A	E	F	A	R	M	K	P	R	K	I	K	E	D	D	A	P	R	T	I
A	E	F	A	R	M	K	P	R	K	I	K	E	D	D	A	P	R	T	I
A	E	F	A	R	M	K	P	R	K	I	K	E	D	D	A	P	R	T	I

GCT TGC CCT CAT AAA GGC TGC ACA AAG ~~TTC~~ TTC AGG GAT AAC TCT GCT ATG ~~AGA~~ AAG CAT  
 GCT TGC CCT CAT AAA GGC TGC ACA AAG ~~AGC~~ TTC AGG GAT AAC TCT GCT ATG ~~AAA~~ AAG CAT  
 GCT TGC CCT CAT AAA GGC TGC ACA AAG ~~ATG~~ TTC AGG GAT AAC TCT GCT ATG ~~AGA~~ AAG CAT

\* Zinkfinger

A	C	P	H	K	G	C	T	K	M	F	R	D	N	S	A	M	<del>R</del>	K	H
A	C	P	H	K	G	C	T	K	<del>M</del>	F	R	D	N	S	A	M	<del>K</del>	K	H
A	C	P	H	K	G	C	T	K	<del>M</del>	F	R	D	N	S	A	M	<del>R</del>	K	H

CTG CAC ACC CAC GGT CCC AGA GTC CAC GTC TGT GCA GAA TGT GGC AAA GCG TTC GTT GAG  
 CTG CAC ACC CAC GGT CCC AGA GTC CAC GTC TGT GCA GAA TGT GGC AAA GCG TTC GTT GAG  
 CTG CAC ACC CAC GGT CCC AGA GTC CAC GTC TGT GCA ~~GAG~~ TGT GGC AAA GCG TTC GTT GAG

L	H	T	H	G	P	R	V	H	V	C	A	E	C	G	K	A	F	V	E
L	H	T	H	G	P	R	V	H	V	C	A	E	C	G	K	A	F	V	E
L	H	T	H	G	P	R	V	H	V	C	A	E	C	G	K	A	F	V	E

AGC TCA AAG CTA AAA CGA CAC CAG CTG GTT CAT ACT GGA GAA AAG CCC TTT CAG-GTAGAGC  
 AGC TCA AAG CTA AAA CGA CAC CAG CTG GTT CAT ACT GGA GAA AAG CCC TTT CAG-GTAGAGC  
 AGC TCA AAG CTA AAA CGA CAC CAG CTG GTT CAT ACT GGA GAA AAG CCC TTT CAG-----

S	S	K	L	K	R	H	Q	L	V	H	T	G	E	K	P	F	Q
S	S	K	L	K	R	H	Q	L	V	H	T	G	E	K	P	F	Q
S	S	K	L	K	R	H	Q	L	V	H	T	G	E	K	P	F	Q

CAGTCCCTGTTCCCCAACTGCAAGCTAGGGTGTGGTCAGGGTGGTGTATCAAGCACTATGGGGCACCGGT  
 CAGTCCCTGTTCCCCAACTGCAAGCTAGGGTGTGGTCAGGGTGGTGTATCAAGCACTATGGGGCACCGGT

-----  
 TGGGGTATTTATTCCCATCCCTCCTGCTGCTGGGTTCTGGTTACTGCTCGGGACTGCAGGTGTTACAGAT  
 TGGGGTATTTATTCCCATCCCTCCTGCTGCTGGGTTCTGGTTACTGCTCGGGACTGCAGGTGTTACAGAT

-----  
 GGGGGTGGAGGGATTATGCGAAGCACCCCCACACTAAATTCTAGCAGGTTACAAAACACTCAACAGTTGTT  
 GGGGGTGGAGGGATTATGCGAAGCACCCCCACACTAAATTCTAGCAGGTTACAAAACACTCAACAGTTGTT

-----  
 TGTAGTGAGTAGTGTTGAATTACTGATAGAGTGCTTATAAGTGCTGGCTACAGCTCCAGGTGACACTTG  
 TGTAGTGAGTAGTGTTGAATTACTGATAGAGTGCTTATAAGTGCTGGCTACAGCTCCAGGTGACACTTG

Figur 9 - 3. Fortsetzung

GTGCTGCTTATAGAACAGACCGTGAGTTGACAGTTGGCATCACTAAATATCTTAATCATCTGTAGTCTACTTCCT  
GTGCTGCTTATAGAACAGACCGTGAGTTGACAGTTGGCATCACTAAATATCTTAATCATCTGTAGTCTACTTCCT

-----  
AGAGTGTCTCTGAAAACACTCAAGCTGAAATTGCACTCAGCACAGCCCTCTGTTCTCAAGAACTAGCCAT  
AGAGTGTCTCTGAAAACACTCAAGCTGAAATTGCACTCAGCACAGCCCTCTGTTCTCAAGAACTAGCCAT

-----  
GGGTGTTAGTATCAGAGATCCCAGTGTGTCAGTTCTAAAATACCCCTCAAGAGGGTTCCAGACGAGGAAGGAGG  
GGGTGTTAGTATCAGAGATCCCAGTGTGTCAGTTCTAAAATACCCCTCAAGAGGGTTCCAGACGAGGAAGGAGG

-----  
CAGCTCAGCAGAATAGTAGGTGGTTCCATCTAACAGCAGTGAGCCATCGATCCCCAGGTTCTGGTCTCATTG  
CAGCTCAGCAGAATAGTAGGTGGTTCCATCTAACAGCAGTGAGCCATCGATCCCCAGGTTCTGGTCTCATTG

-----  
CAAGAGGGTTGATATCTGGTTTCCTGACAG -TGC ACA  
CAAGAGGGTTGATATCTGGTTTCCTGACAG -TGC ACA  
----- -TGC ACA  
C T  
C T  
C T

-----  
TTC GAA GGC TGC GGG AAG CGC TTT TCA CTG GAC TTC AAT TTG CGC ACG CAT GTG CGA ATC  
TTC GAA GGC TGC GGG AAG CGC TTT TCA CTG GAC TTC AAT TTG CGC ACG CAT GTG CGA ATC  
TTC GAA GGC TGC GGG AAG CGC TTT TCA CTG GAC TTC AAT TTG CGC ACG CAT GTG CGA ATC

F	E	G	C	G	K	R	F	S	L	D	F	N	L	R	T	H	V	R	I
F	E	G	C	G	K	R	F	S	L	D	F	N	L	R	T	H	V	R	I
F	E	G	C	G	K	R	F	S	L	D	F	N	L	R	T	H	V	R	I

CAT ACC GGA GAC AGG CCC TAT GTG TGC CCC TTC GAC GGT TGT AAT AAG AAG TTT GCT CAG  
CAT ACC GGA GAC AGG CCC TAT GTG TGC CCC TTC GAC GGT TGT AAT AAG AAG TTT GCT CAG  
CAT ACC GGA GAC AGG CCC TAT GTG TGC CCC TTC GAC GGT TGT AAT AAG AAG TTT GCT CAG

H	T	G	D	R	P	Y	V	C	P	F	D	G	C	N	K	K	F	A	Q
H	T	G	D	R	P	Y	V	C	P	F	D	G	C	N	K	K	F	A	Q
H	T	G	D	R	P	Y	V	C	P	F	D	G	C	N	K	K	F	A	Q

TCA ACT AAC CTG AAA TCT CAC ATC TTA ACA CAC GCT AAA GCC AAA AAC AAC CAG TGA  
TCA ACT AAC CTG AAA TCT CAC ATC TTA ACA CAC GCT AAA GCC AAA AAC AAC CAG TGA  
TCA ACT AAC CTG AAA TCT CAC ATC TTA ACA CAC GCT AAA GCC AAA AAC AAC CAG TGA

## Zinkfinger \*

S	T	N	L	K	S	H	I	L	T	H	A	K	A	K	N	N	Q	*
S	T	N	L	K	S	H	I	L	T	H	A	K	A	K	N	N	Q	*
S	T	N	L	K	S	H	I	L	T	H	A	K	A	K	N	N	Q	*

-----  
AAAGAAGAGAGAAGACCTTCTCGACCCGGGAAGCCTCTTCAGGAGTGTGATTGGATAAAATATGCCCTCTC  
AAAGAAGAGAGAAGACCTTCTCGACCCGGGAAGCCTCTTCAGGAGTGTGATTGGATAAAATATGCCCTCTC  
AAAGAAGAGAGAAGACCTTCTCGACCC-GGGAGCCTCTTCAGGAGTGTGAGATTGGATAAAATATGCCCTCTC

-----  
CTTGATATTATTTCTAGGAAGAATTAAAAATGAATCCTACACACTTAAGGGACATG  
CTTGATATTATTTCTAGGAAGAATTAAAAATGAATCCTACACACTTAAGGGACATG  
CTTGATATTATTTCTAGGAAGAATTAAAAATGAATCCTACACACTTAAGGGACATG

Figur 9 - 4. Fortsetzung

TTTGATAAAAGTAGTAAAAATTAAAAAAACTTTAATAAGATGACATTGCTAAGATGC  
TTTGATAAAAGTAGTAAAAATTAAAAAAACTTTAATAAGATGACATTGCTAAGATGC  
TTTGATAAAAGTAGTAAAAATTAAAAAA-TACTTTAATAAGATGACATTGCTAAGATGC

TCTATCTTGCCTCTGTAATCTCGTTCAAAAACAAGGTGTTTGTAAAGTGTGGCCCCAA  
TCTATCTTGCCTCTGTAATCTCGTTCAAAAACAAGGTGTTTGTAAAGTGTGGTCCCAA  
TATATCTTGCCTCTGTAATCTCGTTCAAAAACAAGGTGTTTGTAAAGTGTGGTCCCAA

CAGGAGGACAATTCATGAACCTCGCATCAAAAGACAATTCTTATACAAACAGTGCTAAAA  
CAGGAGGACAATTCATGAACCTCGCATCAAAAGACAATTCTTATACAAACAGTGCTAAAA  
CAGGAGGACAATTCATGAACCTCGCATCAAAAGACAATTCTTATACAAACAGTGCTAAAA

ATG  
ATG  
ATG

Figur 10

## Proteinvergleich

BB

SHR

Homo sapiens

MASGDTLYIATDGSEMPAEIFVELHEIEVETIPVETIETTVVGE~~EE~~EDDDDEDDEDGGGGDHGGGGH~~G~~HAGHHHHHHHHHH  
 MASGDTLYIATDGSEMPAEIFVELHEIEVETIPVETIETTVVGE~~EE~~EDDDDEDDEDGGGGDHGGGGH~~G~~HAGHHHHHHHHHH  
 MASGDTLYIATDGSEMPAEIFVELHEIEVETIPVETIETTVVGE~~EE~~EDDDDEDDEDGGGGDHGGGGH~~G~~HAGHHHHHHHHHH

~~PP~~PPMIALQPLVTDDPTQVHHHQEVILVQTR~~EE~~VVGDDSDGLRAEDGFEDQILIPV~~P~~PAPAGGDDYIEQTLVTVAAGK  
~~PP~~PPMIALQPLVTDDPTQVHHHQEVILVQTR~~EE~~VVGDDSDGLRAEDGFEDQILIPV~~P~~PAPAGGDDYIEQTLVTVAAGK  
~~HH~~PPMIALQPLVTDDPTQVHHHQEVILVQTR~~EE~~VVGDDSDGLRAEDGFEDQILIPV~~P~~PAPAGGDDYIEQTLVTVAAGK

SGGGSSGGGRVKKG~~GG~~KKSGKSYLGS~~G~~GAGAAGGGGADPGNKKWEQKQV~~Q~~IKTLEGER~~S~~VTMWS~~S~~DEKKDIDHETV~~V~~  
 SGGGSSGGGRVKKG~~GG~~KKSGKSYLGS~~G~~GAGAAGGGGADPGNKKWEQKQV~~Q~~IKTLEGER~~S~~VTMWS~~S~~DEKKDIDHETV~~V~~  
 SGGGASSGGGRVKKG~~GG~~KKSGKSYLGG~~G~~GAGAAGGGGADPGNKKWEQKQV~~Q~~IKTLEGER~~S~~VTMWS~~S~~DEKKDIDHETV~~V~~

QIIGENSPPDYSEYMTGKKLPPGGIPGIDLSDPKQLAEFARMKPRKIKEDDAPRTIA  
 QIIGENSPPDYSEYMTGKKLPPGGIPGIDLSDPKQLAEFARMKPRKIKEDDAPRTIA  
 QIIGENSPPDYSEYMTGKKLPPGGIPGIDLSDPKQLAEFARMKPRKIKEDDAPRTIA

## \*Zinkfinger

CPHKGCTK~~M~~FRDNSAM~~R~~KHLHTHGPRVHVCAECGKAFVESSKLKRHQLVHTGEKPFQCTFEGCGKRFSLDFNLRTHV~~R~~IH  
 CPHKGCTK~~R~~FRDNSAM~~R~~KHLHTHGPRVHVCAECGKAFVESSKLKRHQLVHTGEKPFQCTFEGCGKRFSLDFNLRTHV~~R~~IH  
 CPHKGCTK~~M~~FRDNSAM~~R~~KHLHTHGPRVHVCAECGKAFVESSKLKRHQLVHTGEKPFQCTFEGCGKRFSLDFNLRTHV~~G~~IH

## Zinkfinger\*

TGDRPYVCPFDGCNK~~K~~FAQ~~S~~TNLKSHILTH  
 TGDRPYVCPFDGCNK~~K~~FAQ~~S~~TNLKSHILTH  
 TGDRPYVCPFDGCNK~~K~~FAQ~~S~~TNLKSHILTH

AKAKNNQ\*

AKAKNNQ\*

AKAKNNQ\*

n=411/414

Figur 11

## Yy1-Primer

Bezeichnung	Position	Primersequenzen
K823-F (Promotor)		CAC AGG CGT TTC TCG TCA GAG
K825-R (Promotor)		AAT ACC AAC TCC TCA ACC CCG A
K884-F	-104	CTT CCT CCC TCT GCC TTC CTT
K801-F	55-75	GAG ATC GTG GAA CTG CAT GAG
K827-R	127-150	GTC TTC GTC GTC GTC CTC CTC CTC
K814-F	417-437	CGG AGA CGA CGA CTA CAT CGA
K806-R	428-452	GTG ACC AGC GTC TGC TCG ATG TAG T
K804-R	529-550	CCA GGT AAC TCT TCT TGC CGC
K805-R	589-610	G TT CCC ACT TCT TAT TAC CCG G
K828-F	627-648	CAA GAC CCT GGA GGG CGA GTT C
K830-F	697-721	ACA GTG GTT GAA GAG CAG ATC ATT G
K829-R	690-722	CCA ATG ATC TGC TCT TCA ACC AC
K831-F	839-866	GCC AAG AAA AAT TAA AGA AGA TGA TGC
K832-R	856-881	GCT ATT GTT CTT GGA GCA TCA TCT TC
K815-F	997-1021	GAG AGC TCA AAG CTA AAA CGA CAC C
K833-R	1026-1050	AAA GGG CTT TTC TCC AGT ATG AAC C
K817-R	1077-1099	AAT TGA AGT CCA GTG AAA AGG GC
K816-F	1105-1126	ACG CAT GTG CGA ATC CAT ACC G
K870-R	1346-1372	CAA AAC ATG TCC CTT AAG TGT GTA GGA
K818-R	1501-1528	AAT TGT AAG CAA CAG GTG AGC TTC ATG
K821-F (Intron 3)		GCG AAG CAC CCC CAC ACT AAA TTT C
K874-F (Intron 3)		GCT TAT AAG TGC TGT TGG CTA CAG CT
K875-R (Intron 3)		GTC ACC TGG AGC TGT AGC CAA C

F1	10	1	TCACTGGACTTCATTTGCGC	(1084)
F2	12	1	TTTCACTGGACTTCATTTGCGC	(1081)
F3	12	1	ACCAGATCCTCATTCCGGTACC	(383)
F4	14	1	CCCTTTCAGTGCACATTGAA	(1045)
F5	15	1	GACGACGAAGACGACGAGGAT	(139)
F6	17	1	GAGAGCTAAAGCTAAAACGACACC	(997)
F7	19	1	GGAGACGACGACTACATCGAGC	(418)
F8	22	1	CGGAGACGACGACTACATCGA	(417)
F9	23	1	TGAGAGCTAAAGCTAAAACGACAC	(996)
F10	24	1	GAGGACCAGATCCTCATTCCG	(379)
F11	26	1	AACTCCCTCTGGAGGGATACC	(767)
F12	27	1	GAGACGACGACTACATCGAGCAG	(419)
F13	29	2	GAGGAGGACGACGACGAAAGAC	(130)
F14	30	1	TTGAGAGCTAAAGCTAAAACGACA	(995)
F15	30	1	ACCCCTCTACATTGCCACGGAC	(16)
F16	30	1	ACTACATCGAGCAGACGCTGGT	(428)
F17	34	1	GAGCTAAAGCTAAAACGACACCA	(999)
F18	35	1	TTCAGTGCACATTGAGGGCT	(1049)
F19	36	2	TGGAGACTATCGAGACCACGGT	(98)
F20	37	1	TTTCAGTGCACATTGAGGGC	(1048)
F21	39	1	GTGCGAATCCATACCGGAGAC	(1111)
F22	41	1	GAGGTGATTCTGGTGCAGACG	(301)
F23	41	1	ACTCCCTCTGGAGGGATACCT	(768)
F24	41	2	GTTGGAGACTATCGAGACCACGG	(97)
F25	41	1	AGAGGTGATTCTGGTGCAGACG	(300)
F26	42	1	TGAAATCTCACATCTAACACACGCT	(1190)
F27	43	2	TACATCGAGCAGACGCTGGTC	(430)
F28	43	1	ACGACTACATCGAGCAGACGCT	(425)
F29	43	1	GAAACTCCCTCTGGAGGGATAC	(765)
F30	49	1	CTGCACAAAGATGTTCAAGGGATAAC	(897)

Figur 11 - 1. Fortsetzung

F31	52	1	AAAACGACACCAGCTGGTCATAC	(1011)
F32	52	1	TAAAACGACACCAGCTGGTCATAC	(1010)
F33	53	1	AGAAGAGCGGCAAGAAGAGTTAC	(524)
F34	53	1	ACCTGAAATCTCACATCTAACACACG	(1187)
F35	53	1	CCTGAAATCTCACATCTAACACACG	(1188)
F36	55	1	GACACCAGCTGGTCATACTGGA	(1016)
F37	55	2	GGTGGAGACTATCGAGACCACG	(96)
F38	55	1	AGACGACGACTACATCGAGCAGA	(420)
F39	57	1	CAGTGGTTGAAGAGCAGATCATTG	(698)
F40	57	1	ACAGTGGTTGAAGAGCAGATCATTG	(697)
F41	57	1	GGTTGAAGAGCAGATCATTGGG	(702)
F42	58	1	GGTCCCAGAGTCCACGTCTGT	(952)
F43	59	1	TGCACAAAAGATGTTCAAGGGATAACT	(898)
F44	60	1	GATGCTCCAAGAACAAATAGCTTGC	(862)
F45	62	1	GTCCCAGAGTCCACGTCTGT	(953)
F46	67	1	GCTTTCACTGGACTTCAATTG	(1079)
F47	67	1	AGTGGTTGAAGAGCAGATCATTG	(699)
F48	67	1	GTGGTTGAAGAGCAGATCATTG	(700)
F49	71	1	AGAGCGGCAAGAAGAGTTACCTG	(527)
F50	71	1	TCACATCTAACACACGCTAAAGCC	(1197)
F51	72	1	ATCTCACATCTAACACACGCTAAAGC	(1194)
F52	73	1	CTGAAATCTCACATCTAACACACGC	(1189)
F53	74	1	ACGACACCAGCTGGTCATACTG	(1014)
F54	76	1	AGATATTGACCATGAAACAGTGGTGA	(681)
F55	76	1	GATATTGACCATGAAACAGTGGTGA	(682)
F56	76	1	GAGGGATACTGGCATTGACCT	(779)
F57	77	1	AGACCATCCCGGTGGAGACTAT	(86)
F58	78	1	GAAGAGCGGCAAGAAGAGTTACCT	(525)
F59	78	3	GGAGACTATCGAGACCACGGTG	(99)
F60	82	1	GGTCGAGGACCAGATCCTCA	(374)
F61	83	2	GAGCAGATCATTGGGAGAACTC	(709)
F62	87	1	GAAGATGATGCTCCAAGAACATAGC	(856)
F63	88	1	CGCTAAAGCCAAAACAAACAGT	(1212)
F64	88	1	ATACCGGAGACAGGCCCTATGT	(1121)
F65	89	1	CAATAGCTTGCCTCATAAAGGC	(875)
F66	89	1	AAGATATTGACCATGAAACAGTGGTGA	(680)
F67	89	1	ACAATAGCTTGCCTCATAAAGGC	(874)
F68	92	1	AGAAAAGCCCTTCAGTGCACA	(1038)
F69	95	1	ATATTGACCATGAAACAGTGGTGAAG	(683)
F70	95	1	GCGGCAAGAAGAGTTACCTGG	(530)
F71	95	1	TATTGACCATGAAACAGTGGTGAAG	(684)
F72	95	1	ATTGACCATGAAACAGTGGTGAAG	(685)
F73	95	1	TTGACCATGAAACAGTGGTGAAG	(686)
F74	96	1	GAACAATAGCTTGCCTCATAAAGG	(872)
F75	96	1	AGAACAAATAGCTTGCCTCATAAAGG	(871)
F76	98	1	ACCTCTCAGACCCAAGCAACT	(797)
F77	99	1	ACGCTAAAGCCAAAACAAACAG	(1211)
F78	101	1	AAGATGATGCTCCAAGAACATAGCTT	(857)
F79	101	1	AAACGACACCAGCTGGTCATACT	(1012)
F80	102	1	CGACGGTTGTAATAAGAAGTTGCTC	(1152)
F81	103	1	CAAGAACAAATAGCTTGCCTCATAAA	(869)
F82	103	1	GGAACAGAAGCAGGTGCAGATC	(606)
F83	106	1	AAAAGCCCTTCAGTGCACATT	(1040)
F84	106	2	TCTGCTATGAGAAAGCATCTGCAC	(922)
F85	106	1	AAACAGTGGTTGAAGAGCAGATCATT	(695)
F86	106	1	TTCGACGGTTGTAATAAGAAGTTGC	(1150)
F87	106	1	AGCGTTCGTTGAGAGCTCAAAG	(987)
F88	106	1	GCCCCCTCGACGGTTGTAATA	(1145)
F89	107	1	CAACTGGCAGAATTGCCAGA	(814)
F90	107	1	AGTTCTCGGTCAACCATGTGGTC	(644)
F91	108	1	TGAGAAAGCATCTGCACACCC	(929)

Figur 11 - 2. Fortsetzung

F92	108	1	ATGAGAAAGCATCTGCACACCC	(928)
F93	108	1	TATGAGAAAGCATCTGCACACCC	(927)
F94	111	1	GAGTTCTCGGTACCATGTGGT	(643)
F95	111	1	CACCACCACCAAGAGGTGATT	(289)
F96	111	1	GACGACGACTACATCGAGCAGAC	(421)
F97	112	1	CCCGGTGGAGACTATCGAGAC	(93)
F98	112	1	CAGAAGCAGGTGCAGATCAAGAC	(610)
F99	112	1	GCTAAAGCCAAAAACAACCGATGA	(1213)
F100	113	1	GACCTCTCAGACCCCCAAGCAA	(796)

R1	3	1	GCAAACTTCTTATTACAACCGTCGAA	(1175)
R2	4	1	ACATAGGGCCTGTCTCCGGTAT	(1142)
R3	4	1	AGCAAACCTCTTATTACAACCGTCGA	(1176)
R4	6	1	AGCTTTGAGCTCTCAACGAACG	(1010)
R5	8	1	GAGCAAACCTCTTATTACAACCGTCG	(1177)
R6	8	1	CTTGAGCTCTCAACGAACGCT	(1008)
R7	9	1	GGTTGTTTTGGCTTTAGCGTGT	(1231)
R8	10	1	CTGGTTGTTTTGGCTTTAGCGT	(1233)
R9	11	1	CCTGTCTCCGGTATGGATTTCG	(1134)
R10	12	1	CTGTCTCCGGTATGGATTTCG	(1133)
R11	12	1	GTCTCCGGTATGGATTTCGAC	(1131)
R12	12	1	AGCGTCTGCTCGATGTAGTCGT	(446)
R13	13	1	TTCTGTTCCCACTTCTTATTACCG	(614)
R14	15	2	TCTGCTCGATGTAGTCGTCGTCT	(442)
R15	15	1	ACTGGTTGTTTTGGCTTTAGCG	(1234)
R16	16	4	GTCTGCTCGATGTAGTCGTCGT	(443)
R17	16	4	ATCCTCGTCGTCTCGTCGT	(159)
R18	17	1	CAGTATGAACCAAGCTGGTGTGT	(1036)
R19	17	1	TTGAGCTCTAACGAAACGCTTT	(1006)
R20	19	1	AGACCAACATGGTGACCGAGAAC	(666)
R21	19	1	CTTCTTATTACCGGGTCGG	(603)
R22	20	1	CTGCTCGATGTAGTCGTCGTCT	(441)
R23	21	1	TCGATGTAGTCGTCGTCTCG	(437)
R24	22	1	TTTGAGCTCTAACGAAACGCTT	(1007)
R25	22	1	CCACTTCTTATTACCCGGGTCG	(606)
R26	22	1	CACTTCTTATTACCCGGGTCGG	(605)
R27	22	1	GACCAGCGCTGCTCGATGTA	(450)
R28	23	1	AATTGAAGTCCAGTGAAAAGCG	(1099)
R29	23	1	TGAACCAGCTGGTGTGCTTTAG	(1031)
R30	23	1	GACCACATGGTGACCGAGAACT	(665)
R31	25	1	AACTCTTATTACAACCGTCGAAGGG	(1172)
R32	25	1	TGTTCCCACTTCTTATTACCCGG	(611)
R33	26	3	CCCAGGTAACTCTTCTTCCGG	(551)
R34	26	1	AGAGGTCAATGCCAGGTATCCC	(802)
R35	26	2	CCAGGTAACTCTTCTTCCGG	(550)
R36	27	1	TTGAAGTCCAGTGAAAAGCGCT	(1097)
R37	29	1	TGAGGATCTGGTCCTCGAAC	(394)
R38	29	1	CACATGGTGACCGAGAACTCG	(662)
R39	29	1	GTATGAACCAAGCTGGTGTGTTT	(1034)
R40	30	1	TCAATCTCATGCAGTTCCACGAT	(80)
R41	30	1	TCAATCTCATGCAGTTCCACGA	(80)
R42	30	1	AGTATGAACCAAGCTGGTGTGTT	(1035)
R43	32	1	GGTCTCGATAGTCCTACCGG	(114)
R44	33	1	AAGACCACATGGTGACCGAGAA	(667)
R45	33	1	CAATCTCATGCAGTTCCACGATC	(79)
R46	34	1	GGAATGAGGATCTGGTCCTCG	(398)
R47	34	2	TTCCCACTTCTTATTACCCGGGT	(609)
R48	34	2	TGAAGTCCAGTGAAAAGCGCTT	(1096)
R49	35	1	GCTCGATGTAGTCGTCGTCTCC	(439)

Figur 11 - 3. Fortsetzung

R50	36	1	GTATGAACCAGCTGGTGTGCGTTTA	(1034)
R51	36	1	TTCCCACCTCTTATTACCCGGG	(609)
R52	42	1	GAATGAGGATCTGGTCCTCGAAC	(397)
R53	43	1	GAGGTCAATGCCAGGTATCCCT	(801)
R54	44	1	GTGGTCTCGATAGTCTCCACCG	(116)
R55	44	1	AGGTAACCTCTTCTGCCGCTCTC	(548)
R56	45	1	CACATTCTGCACAGACGTGGA	(982)
R57	46	1	AAAGGGCTTTCTCCAGTATGAACC	(1050)
R58	47	2	ACCATCCTCGTCGCTCGTC	(162)
R59	48	1	GCTTCTGTTCCCACCTCTTATTACCC	(616)
R60	48	1	CACATTCTGCACAGACGTGGA	(982)
R61	49	1	CAGGTAACCTCTTCTGCCGCTCT	(549)
R62	49	1	GATGCTTTCTCATAGCAGAGTTATCCC	(940)
R63	49	1	CTGAAGACCAACATGGTGACCG	(670)
R64	50	2	CCTGCTTCTGTTCCCACCTCTTATTAC	(619)
R65	52	1	ACCAGCGTCTGCTCGATGTAGT	(449)
R66	53	1	TCTTATTACAACCGTGAAGGGG	(1168)
R67	53	1	TTGTTTTGGCTTTAGCGTGTGTT	(1229)
R68	54	1	ACTGAAAGGGCTTTCTCCAGTATG	(1054)
R69	55	1	CACTGAAAGGGCTTTCTCCAGTAT	(1055)
R70	57	1	GAGGTGAGTTCTCCCAATGATC	(736)
R71	58	1	GGTACCGGAATGAGGATCTGGT	(404)
R72	62	1	GTCTCGATAGTCTCCACCGGG	(113)
R73	63	1	CTTCAACCACGTGTTCATGGTCAATA	(709)
R74	64	1	CCTTTATGAGGGCAAGCTATTGTT	(896)
R75	64	1	CTTCAACCACGTGTTCATGGTCAATAT	(709)
R76	65	1	TTTTGGCTTACGCGTGTGTTAAGAT	(1226)
R77	66	1	TTGTTTTGGCTTTAGCGTGTGTTA	(1229)
R78	69	1	CTTGGGGTCTGAGAGGTCAATG	(813)
R79	71	1	GTCCGTGGCAATGTAGAGGGT	(36)
R80	71	1	TCTGGCAAATTCTGCCAGTTG	(834)
R81	72	1	TCACTGGTTGTTTGGCTTTAGC	(1236)
R82	72	1	CTTGTGCAGCCTTATGAGGG	(906)
R83	73	1	GTGTTTTGGCTTACGCGTGTGTT	(1230)
R84	74	1	TGAAAGGGCTTTCTCCAGTATGA	(1052)
R85	75	1	GCAAGCTATTGTTCTGGAGCATC	(885)
R86	76	1	GCCTTATGAGGGCAAGCTATTG	(897)
R87	76	1	GCTTGGGGTCTGAGAGGTCAAT	(814)
R88	76	1	CCAATGATCTGCTTCAACCAC	(722)
R89	77	1	CCACCGGGTCTCGATAGTCTC	(121)
R90	78	1	CTGCTTCTGTTCCCACCTCTTATTAC	(618)
R91	80	1	TTGGCTTCATTCTGCCAAATTC	(844)
R92	81	1	CTTCAACCACGTGTTCATGGTCAAT	(709)
R93	81	1	AATCTCATGCAGTTCCACGATCTC	(78)
R94	82	1	CTTCAACCACGTGTTCATGGTCAA	(709)
R95	83	1	GGGCTTTCTCCAGTATGAACCA	(1047)
R96	83	2	ACCACATGGTGACCGAGAACTC	(664)
R97	84	1	GTGCAGATGCTTCTCATAGCAGA	(945)
R98	84	1	TGTGCAGATGCTTCTCATAGCAG	(946)
R99	85	1	CATTCTGCACAGACGTGGACTC	(980)
R100	85	1	TCTGAGAGGTCAATGCCAGGTATC	(806)

10/539535

Figur 12

## Verkürzter Zinkfinger von BB.6S

1. Nukleinsäuresequenz des „verkürzten“ Zinkfingers bei BB.6S (die durchgestrichenen Nukleotide fehlen, nur die unterstrichenen Nukleotide kodieren für Aminosäuren des Proteins in der zweiten Bande)

```

1  ATGGCCTCGG GCGACACCCCT CTACATTGCC ACGGACGGCT CGGAGATGCC
51  AGCCGAGATC GTGGAACCTGC ATGAGATTGA GGTGGAGACCC ATCCCGGTGG
101 AGACTATCGA GACCACGGTG GTGGCGGAGG AGGAGGACGA CGACGAAGAC
151 GACGAGGATG GTGGCGGGCGG AGACCACGGT GGCGGGGGCG GCCACGGGCA
201 CGCTGGCCAC CACCATCACCC ACCACCACCA CCACCACCCG CCCATGATCG
251 CGCTGCGAGCC GCTGGTCACC GACGACCCGA CCCAAGTGCA CCACCAACCAA
301 GAGGTGATTG TGGTGCAGAC GCGCGAGGAG GTAGTGGGTG GCGACGACTC
351 GGACGGGCTG CGCGCCGAGG ACGGGTTCGA GGACCAAGATC CTCATTCCGG
401 TACCCGCGCC GGCCGGCGGA GACGACGACT ACATCGAAGCA GACGCTGGTC
451 ACCGTGGCGG CGGCGCCGAA GAGCGGTGGC GGGTCTTGT CGGGCGGGCG
501 CCGCGTTAAG AAGGGCGCG GCAAGAAAGAG CGGCAAGAAAG AGTTACCTGG
551 GCAGCGGGGC CGGCGCGCG GGCGGTGGCG GCGCCGACCC GGGTAATAAG
601 AAGTGGGAAC AGAACGAGGT GCAGATCAAG ACCCTGGAGG GCGAGTTCTC
651 GGTCAACCATG TGGTCTTCAG ATGAAAAAAA AGATATTGAC CATGAAACAG
701 TGGTTGAAGA GCAGATCATT GGGGAGAACT CACCTCTGA TTATTCTGAA
751 TATATGACAG GCAAGAAACT CCCTCTGGA GGGATACCTG GCATTGACCT
801 CTCAGACCCC AAGCAACTGG CAGAATTGCA CAGAATGAAG CCAAGAAAAAA
851 TTAAGAAGA TGATGCTCCA AGAACAAATAG CTTGCCCTCA TAAAGGCTGG
901 ACAAAAGAAGT TGAGGGATAAA CTCTCTTATG AGAAAGGATC TCGAGACGCCA
951 CGCTCCGAGA GTGGACGCTCT CTGGAGAAATG TGGCAAGGG TTGGTTCAGA
1001 GCTCAAAGCT AAAACGACAC CAGCTGGTTC ATACTGGAGA AAACCCCTTT
1051 CAGTGCACAT TCGAAGGCTG CGGGAAAGCGC TTTTCACTGG ACTTCAATT
1101 GCGCACGCAT GTGCAATCC ATACCGGAGA CAGGCCCTAT GTGTGCCCCCT
1151 TCGACGGTTG TAATAAGAAG TTTGCTCACT CAACTAACCT GAAATCTCAC
1201 ATCTTAACAC ACGCTAAAGC CAAAAACAAC CAGTGA

```

2. Proteinsequenz des „verkürzten“ Zinkfingers bei BB.6S (die durchgestrichenen Nukleotide fehlen, nur die unterstrichenen Nukleotide sind in der zweiten Bande vorhanden):

```

CPHK G C T K M F R D N S A M R K H L H T H G P R V H V
G A E C G K A F V E S S K L K R H Q L V H T G E K P F Q
CTFEGCGKRESLDNLRTHVRIHTGDRPYV
CPFDGCNKKFAQSTNLKSHILTH

```

Figur 13**Erfindungsgemäß verwendete Antisense-Oligonukleotide**

(Die angegebenen Positionen beziehen sich nur auf den kodierenden Bereich und entsprechen nicht den Positionsnummern im Sequenzprotokoll.)

>gi|1835104|emb|Z85393.1|HSZ85393 H.sapiens Ig lambda light chain variable region gene(34-30SWIIE197) rearranged; Ig-Light-Lambda; VLambda  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 74 accggagcccgtg 88  
||||||| | | | | | | | |

Sbjct: 241 accggagcccgtg 228  
V\_region 1..348

>gi|14589948|ref|NM\_000937.2| Homo sapiens polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide A, 220kDa (POLR2A), mRNA  
Identities = 17/18 (94%)

Query: 77 ggagcccgctgtgggaga 94  
||||||| | | | | | | | |

Sbjct: 5099 ggagcccggtgtgggaga 5082  
CDS 387..6299

>gi|18596386|ref|XM\_093190.1| Homo sapiens similar to T-cell activation protein (LOC170226), mRNA  
Identities = 20/21 (95%)

Query: 76 cggagcccgctgtggagatg 96  
||||||| | | | | | | | | | |

Sbjct: 156 cggagcacgctgtggagatg 176  
CDS 1..1314

>gi|7934571|gb|AF220152.2|AF220152 Homo sapiens TACC2 mRNA, complete cds  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 78 gagcccgctgtggg 91  
||||||| | | | | | | | | | |

Sbjct: 977 gagcccgctgtggg 990  
CDS 293..3013

>gi|6165844|gb|AF100772.1|AF100772 Homo sapiens tenascin-M1 (TNM1) mRNA,  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 79 agcccgctgtgggaga 94  
||||||| | | | | | | | | | |

Sbjct: 4377 agcccgctgtgggaga 4362  
CDS 65..8242  
function="putative receptor molecule"

>gi|24496766|ref|NM\_004712.3| Homo sapiens hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate (HGS), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 79 agcccgctgtgggag 93  
||||||| | | | | | | | | | |

Sbjct: 2088 agcccgctgtgggag 2074

10/539535

CDS 78..2411  
 /note="human growth factor-regulated tyrosine kinase  
 >gi|4324953|gb|AF114821.1|HSSMO3 Homo sapiens smoothened (SMO) gene, exons 3  
 through 12 and complete  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 79 agcccgctgtggga 93  
 |||||||  
 Sbjct: 6838 agcccgctgtggga 6825  
 CDS 6833..6967

>gi|22064913|ref|XM\_090047.5| Homo sapiens LOC160156 (LOC160156), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 80 gcccgctgtgggag 93  
 |||||||  
 Sbjct: 1427 gcccgctgtgggag 1440  
 CDS 709..1980

>gi|517388|emb|Z31606.1|HSB2NO3 H.sapiens brain-2/N-Oct 3 gene (promoter  
 region)  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 80 gcccgctgtgggaga 94  
 |||||||  
 Sbjct: 547 gcccgctgtgggaga 561  
 promoter 1..670  
 >gi|23273501|gb|BC035782.1| Homo sapiens, Similar to tyrosine kinase, non-  
 receptor, 1, clone  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 83 cgctgtgggagatgt 97  
 |||||||  
 Sbjct: 1032 cgctgtgggagatgt 1046  
 CDS 98..2083

>gi|7662017|ref|NM\_015153.1| Homo sapiens PHD finger protein 3 (PHF3), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 84 gctgtgggagatgt 97  
 |||||||  
 Sbjct: 2228 gctgtgggagatgt 2241  
 CDS 28..6147  
 >gi|20561197|ref|XM\_062302.3| Homo sapiens similar to RING finger protein 18  
 (Testis-specific ring-finger protein) (LOC120826), mRNA  
 Score = 28.2 bits (14), Expect = 119  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 84 gctgtgggagatgt 97  
 |||||||  
 Sbjct: 489 gctgtgggagatgt 502  
 CDS 190..2244  
 /product="similar to RING finger protein 18 (Testis-specific ring-finger protein)"  
 >gi|4885330|ref|NM\_005305.1| Homo sapiens G protein-coupled receptor 42  
 (GPR42), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)  
 Query: 84 gctgtgggagatgt 97  
 |||||||  
 Sbjct: 486 gctgtgggagatgt 473  
 CDS 1..1041  
 >gi|17473297|ref|XM\_061928.1| Homo sapiens LOC120226 (LOC120226), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 84 gctgtggagatgt 97

|||||||||||||

Sbjct: 453 gctgtggagatgt 466

CDS 1..492

>gi|21359977|ref|NM\_024947.2| Homo sapiens polyhomeotic like 3 (Drosophila) (PHC3), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 85 ctgtggagatgt 97

|||||||||||||

Sbjct: 404 ctgtggagatgt 391

CDS 65..2959

/note="early development regulator 3; polyhomeotic 3"

>gi|19718811|gb|BC007249.2| Homo sapiens, pelota homolog (Drosophila), clone

Identities = 13/13 (100%)

Query: 97 taacgggtgcctgc 109

|||||||||||||

Sbjct: 1303 taacgggtgcctgc 1291

CDS 274..1431

/product="pelota homolog (Drosophila)"

>gi|19924298|ref|NM\_004958.2| Homo sapiens FK506 binding protein 12-rapamycin associated protein 1(FRAP1), mRNA

Identities = 13/13 (100%)

Query: 98 acgggtgcctgccc 111

|||||||||||||

Sbjct: 5720 acgggtgcctgccc 5732

CDS 80..7729

/note="FK506 binding protein 12-rapamycin associated protein 2; rapamycin target protein; FKBP12-rapamycin complex-associated protein 1; FKBP-rapamycin associated"

>gi|22049727|ref|XM\_040948.8| Homo sapiens dynein, cytoplasmic, heavy polypeptide 1 (DNCH1), mRNA

Identities = 13/13 (100%)

Query: 99 acgggtgcctgccc 111

|||||||||||||

Sbjct: 6291 acgggtgcctgccc 6303

CDS 6..6830

/product="similar to cytoplasmic dynein heavy chain"

>gi|459833|gb|L25085.1|HUMSEC61B Human Sec61-complex beta-subunit mRNA,

Identities = 14/14 (100%)

Query: 100 cgggtgcctgcccag 113

|||||||||||||

Sbjct: 220 cgggtgcctgcccag 207

CDS 64..354

/function="protein translocation across the er-membrane"

>gi|21704280|ref|NM\_020433.2| Homo sapiens junctophilin 2 (JPH2), mRNA

Identities = 17/18 (94%)

Query: 100 cgggtgcctgcccagcctc 117

10/539535

|||||||  
 Sbjct: 2526 cggcgcctgcagagcctc 2509  
 CDS 874..2964  
 mediate cross talk between cell surface and intracellular ion channels.

>gi|12804622|gb|BC001734.1|BC001734 Homo sapiens, protein translocation complex beta, clone MGC:1255  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 100 cggcgcctgcggag 113  
 |||||  
 Sbjct: 233 cggcgcctgcggag 220  
 CDS 77..367  
 >gi|22053428|ref|XM\_038146.5| Homo sapiens interferon, gamma-inducible protein 30 (IFI30), mRNA  
 Identities = 16/17 (94%)

Query: 100 cggcgcctgcggagcct 116  
 |||||  
 Sbjct: 289 cggcggctgcggagcct 305  
 CDS 74..826  
 /product="similar to Gamma-interferon inducible lysosomal thiol reductase precursor (Gamma-interferon-inducible protein IP-30)"

>gi|7657145|ref|NM\_014365.1| Homo sapiens protein kinase H11 (H11), mRNA  
 Identities = 13/13 (100%)

Query: 101 ggtgcctgcccag 113  
 |||||  
 Sbjct: 763 ggtgcctgcccag 775  
 CDS 524..1114  
 /note="contains hsp20/crystallin family domain; estradiol-induced; small stress protein-like protein HSP22"  
 >gi|21264316|ref|NM\_014599.3| Homo sapiens melanoma antigen, family D, 2 (MAGED2), mRNA  
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 101 ggtgcctgcccagcctct 118  
 |||||  
 Sbjct: 332 ggtgcctcccgagcctct 315  
 CDS 97..1917  
 /note="hepatocellular carcinoma associated protein; breast cancer associated gene 1"  
 >gi|11967745|emb|AJ293618.1|HSA293618 Homo sapiens mRNA for hypothetical protein 11B6, clone XP11B6  
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 101 ggtgcctgcccagcctct 118  
 |||||  
 Sbjct: 248 ggtgcctcccgagcctct 231  
 CDS 13..1833  
 >gi|20514781|ref|NM\_139015.1| Homo sapiens SPPL3 (SPPL3), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 104 gcctgcccagcctc 117  
 |||||  
 Sbjct: 569 gcctgcccagcctc 582  
 CDS 1..1905  
 /product="hypothetical protein XP\_068909"

>gi|23094385|emb|AJ345030.1|HSA345030 Homo sapiens mRNA for presenilin-like protein 4 (PSL4 gene)

Identities = 14/14 (100%)

Query: 104 gcctgccgagcctc 117  
|||||||||||||  
Sbjct: 598 gcctgccgagcctc 611  
CDS 54..1208  
/function="putative intramembrane protease"

>gi|4502840|ref|NM\_003654.1| Homo sapiens carbohydrate (keratan sulfate Gal-6) sulfotransferase 1 (CHST1), mRNA  
Identities = 16/17 (94%)

Query: 105 cctgccgagcctctacg 121  
|||||||||||||  
Sbjct: 735 cctgcggagcctctacg 751  
CDS 367..1602  
/note="carbohydrate (chondroitin 6/keratan) sulfotransferase 1"  
/protein\_id="NP\_003645.1"

>gi|17485022|ref|XM\_066361.1| Homo sapiens similar to glutathione S-transferase theta 1 (LOC129041), mRNA  
Identities = 13/13 (100%)

Query: 105 cctgccgagcctc 117  
|||||||||||||  
Sbjct: 580 cctgccgagcctc 568  
CDS 1..633  
/product="similar to glutathione S-transferase theta 1"

>gi|22134527|gb|AF331523.1| Homo sapiens chromosome 12 putative anion transporter mRNA, partial  
Identities = 13/13 (100%)

Query: 106 ctgccgagcctct 118  
|||||||||||||  
Sbjct: 807 ctgccgagcctct 819  
CDS <312..2003  
note="member of the SLC26 family;"

>gi|14784297|ref|XM\_031102.1| Homo sapiens Breakpoint cluster region protein, uterine leiomyoma, 2 (BCRP2), mRNA  
Identities = 13/13 (100%)

Query: 108 gccgagcctctac 120  
|||||||||||||  
Sbjct: 1784 gccgagcctctac 1796  
CDS 55..2883  
/product="similar to KIAA1824 protein"  
>gi|20535791|ref|XM\_119632.1| Homo sapiens LOC205318 (LOC205318), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 123 tcggctctagcacc 136  
|||||||||||||  
Sbjct: 491 tcggctctagcacc 504  
CDS 1..522  
/product="hypothetical protein XP\_119632"

>gi|4557448|ref|NM\_001271.1| Homo sapiens chromodomain helicase DNA binding protein 2 (CHD2), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 125 ggctctagcacctt 138  
 |||||||  
 Sbjct: 2791 ggctctagcacctt 2778  
 CDS 708..5927  
 /product="chromodomain helicase DNA binding protein 2"  
 >gi|21264574|ref|NM\_139135.1| Homo sapiens SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily f, member 1 (SMARCF1), transcript variant 2, mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 128 tcttagcaccttgac 141  
 |||||||  
 Sbjct: 5474 tcttagcaccttgac 5487  
 CDS 371..6577  
 /note="brain protein 120; chromosome 1 open reading frame 4; SWI/SNF complex protein p270; BRG1-associated factor 250a; chromatin remodeling factor p250; OSA1 nuclear protein"  
 >gi|18129612|gb|AF333072.2|AF333072 Homo sapiens HERV-K18.1 5' long terminal repeat, complete sequence; gag protein (gag) gene, gag-K18.1 allele, complete cds; pol protein (pol) gene, pol-K18.1 allele, complete cds; env protein (env) gene, env-K18.1 allele, complete cds; and 3' long terminal repeat, complete sequence  
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 143 tactctaactccacctct 160  
 |||||||  
 Sbjct: 1196 tactctaactccccctct 1179  
 CDS 1113..1874  
 >gi|4503778|ref|NM\_002029.1| Homo sapiens formyl peptide receptor 1 (FPR1),  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 148 taactccacacctctg 161  
 |||||||  
 Sbjct: 1102 taactccacacctctg 1089  
 CDS 62..1114  
 /product="formyl peptide receptor 1"  
 /product="protein tyrosine kinase-7"  
 >gi|21655145|gb|AY082886.1| Homo sapiens eukaryotic translation initiation factor 4GI (EIF4GI)  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 150 actccacacctctgg 163  
 |||||||  
 Sbjct: 1400 actccacacctctgg 1387  
 CDS 275..5077  
 >gi|13357213|ref|NM\_015545.1| Homo sapiens KIAA0632 protein (KIAA0632), mRNA  
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 152 tccacacctctggtagggcc 169  
 |||||||  
 Sbjct: 931 tccacacctctggtagggcc 914  
 CDS 282..1790  
 /product="KIAA0632 protein"  
 >gi|18182862|gb|BC015632.1| Homo sapiens, similar to hypothetical protein XP\_166541, clone  
 Identities = 18/19 (94%)

Query: 153 ccacctctgttagggccac 171  
 ||||| |||||  
 Sbjct: 2098 ccacctcggttagggccac 2080  
 CDS 52..2517

>gi|24432033|ref|NM\_004959.3| Homo sapiens nuclear receptor subfamily 5, group A, member 1 (NR5A1),  
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 159 ctggtagggccacctctg 176  
 ||||| |||||  
 Sbjct: 2316 ctgggagggccacctctg 2299  
 CDS 52..13776

>gi|17432414|gb|AF447167.1|F447157S05 Homo sapiens protein tyrosine kinase-7 (PTK7) gene, exons 11, 12, and 13  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 161 ggttagggccacctct 175  
 ||||| |||||  
 Sbjct: 553 ggttagggccacctct 567  
 CDS AF447164.1: 548..683

>gi|19882212|ref|NM\_032119.1| Homo sapiens very large G protein-coupled receptor 1 (VLGR1), mRNA  
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 170 acctctgtatagctctgt 187  
 ||||| |||||  
 Sbjct: 11300 acctctgtataactctgt 11283  
 CDS 97..19020

>gi|22044294|ref|XM\_174449.1| Homo sapiens LOC255281 (LOC255281), mRNA  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 180 cctctgtatagctctgg 196  
 ||||| |||||  
 Sbjct: 460 cctctgtatagctctgg 445  
 CDS 1..474

>gi|1841544|gb|U89337.1|HSMHC3W36A Homo sapiens HLA class III region containing NG7, cAMP response element binding protein-related protein (CREB-RP), and tenascin X genes,  
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 180 gctctggtgcaccaccc 197  
 ||||| |||||  
 Sbjct: 54778 gctctggtgcctccaccc 54795  
 CDS 54566..54883

>gi|6164703|gb|AF167572.1|AF167572 Homo sapiens protein methyltransferase (JBP1) mRNA, complete cds  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 181 ctctggtgcacca 194  
 ||||| |||||  
 Sbjct: 574 ctctggtgcacca 561  
 CDS 92..2005  
 /function="methylates histones H2A and H4 and myelin basic

/product="protein methyltransferase"

gi|2323409|gb|AF015913.1|AF015913 Homo sapiens SKB1Hs mRNA, complete cds  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 181 ctctggtgcacca 194  
||||||||||||||

Sbjct: 483 ctctggtgcacca 470  
CDS 1..1914  
/note="homolog of fission yeast Skb1"

>gi|18490998|ref|NM\_003882.2| Homo sapiens WNT1 inducible signaling pathway  
protein 1 (WISP1), transcript variant 1, mRNA  
Identities = 18/19 (94%)

Query: 181 ctctggtgcacccacccgc 199  
||||||||||| |||||

Sbjct: 569 ctctggtgcacccacccgc 587  
CDS 77..1180

>gi|14245731|dbj|AB051853.1| Homo sapiens ARHGAP9 gene for rho-GTPase  
activating protein, complete  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 181 ctctggtgcacca 195  
||||||||||||||

Sbjct: 2013 ctctggtgcacca 2027  
CDS 140..2335

/function="regulating adhesion of hematopoietic cells to  
extracellular matrix"

>gi|16876446|ref|NM\_054028.1| Homo sapiens acyl-malonyl condensing enzyme  
(AMAC), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 181 ctctggtgcacca 194

Sbjct: 220 ctctggtgcacca 233  
CDS 122..1138

>gi|18594399|ref|XM\_092954.1| Homo sapiens similar to acidic protein rich in  
leucines (LOC164697), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 182 tctggtgcacca 195

Sbjct: 721 tctggtgcacca 734  
CDS 1..2454  
/product="similar to acidic protein rich in leucines"

>gi|20553841|ref|XM\_031689.6| Homo sapiens MAX dimerization protein 5 (MGA),  
mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 182 tctggtgcacca 195

Sbjct: 463 tctggtgcacca 476  
CDS 82..4773  
/product="similar to MAX-interacting protein"

>gi|18575418|ref|XM\_100074.1| Homo sapiens LOC159480 (LOC159480), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 183 ctgggccaccacc 196

|||||||||||||||

Sbjct: 475 ctgggccaccacc 488

CDS 1..1425

/product="hypothetical protein XP\_100074"

>gi|6912511|ref|NM\_012330.1| Homo sapiens monocytic leukemia zinc finger protein-related factor (MORF), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 183 ctgggccaccacc 196

|||||||||||||||

Sbjct: 1535 ctgggccaccacc 1548

CDS 316..6537

/note="alternatively spliced; histone acetyltransferase"

/product="monocytic leukemia zinc finger protein-related factor"

>gi|18032211|gb|AF217500.1|AF217500 Homo sapiens histone acetyltransferase

MOZ2 (MOZ2) mRNA, complete cds

Identities = 14/14 (100%)

Query: 183 ctgggccaccacc 196

|||||||||||||||

Sbjct: 1708 ctgggccaccacc 1721

CDS 489..6707

/note="MYST family member; similar to MOZ"

/product="histone acetyltransferase MOZ2"

>gi|24497588|ref|NM\_139058.1| Homo sapiens aristaless related homeobox (ARX),

mRNA

Identities = 15/15 (100%)

Query: 185 ggtgccaccacccgc 199

|||||||||||||||

Sbjct: 663 ggtgccaccacccgc 649

CDS 1..1689

>gi|4758787|ref|NM\_004551.1| Homo sapiens NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S

protein 3, 30kDa (NADH-coenzyme Q reductase) (NDUFS3), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 187 tgccaccacccgct 200

|||||||||||||||

Sbjct: 675 tgccaccacccgct 662

CDS 13..807

>product="bA171A24.1 (RAR-related orphan receptor B)" gene="RORB"/

Identities = 27/29 (93%)

Query: 189 ccaccaccgcgtcctcctcctgctgc 217

||||||||| |||||||||||||||||

Sbjct: 140523 ccaccaccaactcctcctcctgctgc 140551

CDS: 140352..>140970

>gi|23510326|ref|NM\_015692.1| Homo sapiens alpha-2 macroglobulin family

protein VIP (VIP), mRNA

Identities = 21/22 (95%)

Query: 195 cccgctcctcctcctgctgc 216

10/539535

Sbjct: 544 ctccttccttcgtgtgtc 563  
CDS 79..1800

>gi|7662013|ref|NM\_014745.1| Homo sapiens KIAA0233 gene product (KIAA0233), mRNA  
Identities = 30/32 (93%)

Query: 199 ctccttccttcgtgtgtc 230  
|||||||  
Sbjct: 803 ctccttccttcgtgtgtc 772  
CDS 3..6110

>gi|4504382|ref|NM\_001528.1| Homo sapiens HGF activator (HGFAC), mRNA  
Identities = 27/28 (96%)

Query: 199 ctccttccttcgtgtgtc 226  
|||||||  
Sbjct: 64 ctccttccttcgtgtgtc 91  
CDS 4..1971

>gi|23111046|ref|NM\_152227.1| Homo sapiens sorting nexin 5 (SNX5), transcript variant 1, mRNA  
Identities = 18/18 (100%)

Query: 200 tccttccttcgtgtgc 217  
|||||||  
Sbjct: 221 tccttccttcgtgtgc 204  
CDS 181..1395

>gi|22507392|ref|NM\_022574.2| Homo sapiens PERQ amino acid rich, with GYF domain 1 (PERQ1), mRNA  
Identities = 28/31 (90%)

Query: 200 tccttccttcgtgtgtc 230  
|||||||  
Sbjct: 1856 tccttccttcgtgtgtc 1826  
CDS 236..2689

>gi|10834965|ref|NM\_000404.1| Homo sapiens galactosidase, beta 1 (GLB1), transcript variant 179423, mRNA  
Identities = 26/28 (92%)

Query: 200 tccttccttcgtgtgc 227  
|||||||  
Sbjct: 83 tccttccttcgtgtgtc 110  
sig\_peptide 61..129  
CDS 61..2094

>gi|1814019|gb|U84408.1|HSU84408 Human IL-1 receptor related protein MyD88 mRNA, complete cds  
Identities = 20/20 (100%)

Query: 201 ctccttccttcgtgtgtc 220  
|||||||  
Sbjct: 433 ctccttccttcgtgtgtc 414  
CDS 61..951

>gi|15929589|gb|BC015219.1|BC015219 Homo sapiens, HBV associated factor, clone  
Identities = 25/27 (92%)

Query: 201 ctccttccttcgtgtgtc 227

```

Sbjct: 1211 cctcctgctgctgctgctccgctgct 1185
      ||||||| ||||||||||||||| ||||| |
CDS      434..1966

>gi|4885332|ref|NM_005306.1| Homo sapiens G protein-coupled receptor 43
(GPR43), mRNA
Identities = 22/23 (95%)

Query: 201 cctcctcctgctgctgcttctgc 223
      ||||||| ||||||||||||||| ||||| |
Sbjct: 165 cctcctcctgctgctgctgctgc 187
CDS      1..993
/note="7tm_1; Region: 7 transmembrane receptor (rhodopsin
family)"

>gi|19111149|ref|NM_133265.1| Homo sapiens angiomotin (AMOT), mRNA
Identities = 24/26 (92%)

Query: 202 ctcctcctgctgctgcttctgctgct 227
      ||||||| ||||||||||||||| ||||| |
Sbjct: 2448 ctccttctgctgctgctgctgctgct 2473
CDS      797..2824

>gi|24308357|ref|NM_033253.1| Homo sapiens 5'-nucleotidase, cytosolic IB
(NT5C1B), mRNA
Identities = 24/26 (92%)

Query: 203 tcctcctgctgctgcttctgctgctc 228
      ||||||| ||||||||||||||| ||||| |
Sbjct: 678 tcctcccgtgctgctgctgctgctc 653
CDS      482..1690
/note="5' nucleotidase; autoimmune infertility-related protein; 5?-nucleotidase,
cytosolic IB; cytosolic 5'-nucleotidase IB; 5#-nucleotidase, cytosolic IB"

>gi|11545760|ref|NM_022055.1| Homo sapiens potassium channel, subfamily K,
member 12 (KCNK12),
Identities = 22/23 (95%)

Query: 204 cctcctgctgctgcttctgctgc 226
      ||||||| ||||||||||||||| ||||| |
Sbjct: 59 cctcctgctgctgctgctgctgctc 81
CDS      1..1293
/note="tandem pore domain potassium channel THIK-2"

>gi|5729946|ref|NM_006681.1| Homo sapiens neuromedin U (NMU), mRNA
Identities = 23/24 (95%)

Query: 205 ctctgctgctgcttctgctgctc 228
      ||||||| ||||||||||||||| ||||| |
Sbjct: 169 ctctgctgctgctgctgctgctc 192
CDS      106..630
sig_peptide 106..207

>gi|4128016|emb|AJ011701.1|HSA011701 Homo sapiens TRHR gene promoter and exons
1-2, partial
Identities = 20/20 (100%)

Query: 205 ctccctgctgctgcttctgct 224
      ||||||| ||||||||||||||| ||||| |
Sbjct: 1732 ctccctgctgctgcttctgct 1751
exon      1691..1946

```

>gi|17985370|gb|AF284094.1|AF284094 Homo sapiens I3 binding protein (BRI3BP)  
mRNA, complete cds  
Identities = 22/23 (95%)

Query: 205 ctccctgctgctgcttctgctgct 227  
||| ||||| ||||| ||||| |||||  
Sbjct: 130 ctccctgctgctgctgctgctgct 152  
CDS 88..843

>gi|15625294|gb|AF286190.1|AF286190 Homo sapiens VPS10 domain protein mRNA,  
Identities = 22/23 (95%)

Query: 205 ctccctgctgctgcttctgctgct 227  
||| ||||| ||||| ||||| |||||  
Sbjct: 5 ctccctgctgctgctgctgctgct 27  
CDS <1..>1251

>gi|28761|emb|X13629.1|HSAPOA4 Human intestinal mRNA for apolipoprotein A-IV  
Identities = 22/23 (95%)

Query: 205 ctccctgctgctgcttctgctgct 228  
||| ||||| ||||| ||||| |||||  
Sbjct: 1203 ctccctgctgctgcttctgctgct 1181  
CDS 46..1236

>gi|17458351|ref|XM\_047011.2| Homo sapiens protein O-fucosyltransferase 1  
(POFUT1), mRNA  
Identities = 23/24 (95%)

Query: 206 tcctgctgctgcttctgctgctcc 229  
||| ||||| ||||| ||||| |||||  
Sbjct: 90 tcctgctgctgcttctgcccgtcc 113  
CDS 50..1216

>gi|15812213|ref|NM\_033431.1| Homo sapiens phosphodiesterase 5A, cGMP-specific  
(PDE5A), transcript variant 4, mRNA  
Identities = 20/20 (100%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgct 227  
||| ||||| ||||| |||||  
Sbjct: 227 ctgctgctgcttctgctgct 208  
CDS 156..2753

>gi|3252778|dbj|D89094.1| Homo sapiens mRNA for 3',5'-cyclic GMP  
phosphodiesterase, complete  
Identities = 20/20 (100%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgct 227  
||| ||||| ||||| |||||  
Sbjct: 391 ctgctgctgcttctgctgct 372  
CDS 320..2947

>gi|11496985|ref|NM\_012072.2| Homo sapiens complement component 1, q  
subcomponent, receptor 1 (C1QR1), mRNA  
Identities = 22/23 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcc 230  
||| ||||| ||||| |||||  
Sbjct: 170 ctgctgctgctgctgctgctcc 192  
CDS 149..2107

10/539535

>gi|4809281|ref|NM\_001718.2| Homo sapiens bone morphogenetic protein 6 (BMP6),  
Identities = 22/23 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcct 230  
||||||| ||||| ||||| |||||

Sbjct: 533 ctgctgctgctgctgctgctcct 511  
CDS 180..1721

/note="Vg-related sequence; transforming growth factor-beta"

>gi|14777259|ref|XM\_027568.1| Homo sapiens similar to interleukin 9 receptor  
(LOC146316), mRNA  
Identities = 22/23 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcct 230  
||||||| ||||| ||||| |||||

Sbjct: 1294 ctgctgctgctgctgctgctcct 1272  
CDS 660..1547

>gi|2626738|dbj|AB005060.1| Homo sapiens mRNA for NTAK, complete cds  
Identities = 22/23 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcct 230  
||||||| ||||| ||||| |||||

Sbjct: 341 ctgctgctgctgctgctgctcct 319  
CDS 226..2778

>gi|4507106|ref|NM\_003086.1| Homo sapiens small nuclear RNA activating  
complex, polypeptide 4,90kDa (SNAPC4), mRNA  
Identities = 21/22 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcc 229  
||||||| ||||| ||||| |||||

Sbjct: 1994 ctgctgctgctgctgctgctcc 1973

Identities = 27/29 (93%), Gaps = 1/29 (3%)

Query: 200 tcctcctc-ctgctgctgcttctgct 227  
||||||| ||||| ||||| |||||

Sbjct: 2009 tcctcctcgtgctgctgctgctgctgct 1981  
CDS 376..4785

>gi|21237798|ref|NM\_139205.1| Homo sapiens histone deacetylase 5 (HDAC5),  
transcript variant 2,  
Identities = 21/22 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcc 229  
||||||| ||||| ||||| |||||

Sbjct: 1888 ctgctgctgcttctgcttctcc 1867  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 205 ctccctgctgctgctt 219  
||||||| |||||

Sbjct: 670 ctccctgctgctgctt 656  
CDS 305..3418

/note="isoform 2 is encoded by transcript variant 2; antigen NY-CO-9"

>gi|2564750|gb|AF029308.1|HTCRBCHR9 Homo sapiens chromosome 9 duplication of  
the T cell receptor beta locus and trypsinogen gene families  
Identities = 19/19 (100%)

Query: 209 tgctgctgcttctgctgct 227  
 |||||||  
 Sbjct: 11391 tgctgctgcttctgctgct 11409  
 V\_segment join(11390..11420

>gi|1296750|emb|Z49234.1|HSTCRB2X2 H.sapiens gene for T-cell receptor TCRBV2.2  
 Identities = 19/19 (100%)

Query: 209 tgctgctgcttctgctgct 227  
 |||||||  
 Sbjct: 976 tgctgctgcttctgctgct 994  
 CDS 975..>1141

>gi|13027808|ref|NM\_022718.1| Homo sapiens matrix metalloproteinase 25  
 (MMP25), transcript variant 2, mRNA  
 Identities = 18/18 (100%)

Query: 210 gctgctgcttctgctgct 227  
 |||||||  
 Sbjct: 264 gctgctgcttctgctgct 281  
 CDS 238..1926

>gi|12803104|gb|BC002356.1|BC002356 Homo sapiens, nucleobindin 1, clone  
 Identities = 21/22 (95%)

Query: 213 gctgcttctgctgctcct 230  
 |||||  
 Sbjct: 68 gctgctgctgctgctcct 85

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcc 229  
 |||||  
 Sbjct: 1235 ctgctgctgcttcccgctgctcc 1214  
 CDS 27..1412

>gi|24496766|ref|NM\_004712.3| Homo sapiens hepatocyte growth factor-regulated  
 tyrosine kinase substrate (HGS), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 215 tgcttctgctgctcc 229  
 |||||  
 Sbjct: 1732 tgcttctgctgctcc 1718  
 CDS 78..2411

>gi|20544115|ref|XM\_059933.5| Homo sapiens similar to putative  
 lysophosphatidic acid acyltransferase (LOC137964), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 216 gcttctgctgctcct 230  
 |||||  
 Sbjct: 2233 gcttctgctgctcct 2219  
 CDS 913..2283

>gi|22770666|gb|AF531299.1| Homo sapiens histone H1 (HIST1H1A) gene, complete  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 216 gcttctgctgctcct 230  
 |||||  
 Sbjct: 551 gcttctgctgctcct 565  
 CDS 521..1168

10/539535

>gi|18390058|gb|AF463518.1| Homo sapiens cell recognition protein CASPR4  
 (CASPR4) mRNA, complete  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 216 gcttctgctgctcct 230  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 1568 gcttctgctgctcct 1582  
 CDS 140..4075  
 /product="cell recognition protein CASPR4"

>gi|21359973|ref|NM\_053276.2| Homo sapiens vitrin (VIT), mRNA  
 Identities = 19/20 (95%)

Query: 216 cttctgctgctcctaccacc 236  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 835 cttctgctgctcctaccacc 854  
 CDS 222..2303

>gi|23308602|ref|NM\_015460.1| Homo sapiens myosin VIIA and Rab interacting protein (MYRIP), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 220 ctgctgctcctacca 234  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 409 ctgctgctcctacca 423  
 CDS 137..2716  
 /product="myosin VIIA and Rab interacting protein"

>gi|15559110|gb|AF414087.1| Homo sapiens small breast epithelial mucin mRNA, complete cds  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 220 ctgctgctcctaccac 235  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 210 ctgctgctcctaccac 225  
 CDS 47..319  
 note="SBEM; secreted protein; similar to *Mus musculus*

>gi|22779205|dbj|AB083783.1| Homo sapiens slac2-c mRNA for Slp homologue lacking C2 domains-c, complete cds  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 220 ctgctgctcctacca 234  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 273 ctgctgctcctacca 287  
 CDS 1..2580

>gi|7705267|ref|NM\_016255.1| Homo sapiens family with sequence similarity 8, member A1 (FAM8A1),  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 226 ctcttaccaccggccg 240  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 147 ctcttaccaccggccg 161  
 CDS 56..1297  
 /product="Autosomal Highly Conserved Protein"

>gi|14210509|ref|NM\_032496.1| Homo sapiens rho-gtpase activating protein ARHGAP9 (ARHGAP9), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 240 gcctctgggccacc 254  
 |||||||

Sbjct: 2335 gcctctgggccacc 2349

CDS 407..2659

/product="hypothetical protein MGC12959"

>gi|184756|gb|J00221.1|HUMIGCD7 Human Ig germline H-chain G-E-A region B: alpha-2 A2m(1) allele constant region, 3' end  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 240 gcctctgggccacc 254  
 |||||||

Sbjct: 800 gcctctgggccacc 814

CDS join(<164..469,684..1004,1227..1621)

/product="immunoglobulin alpha-2 heavy chain"

>gi|21361375|ref|NM\_007165.2| Homo sapiens splicing factor 3a, subunit 2, 66kDa (SF3A2), mRNA  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 248 tgccaccgccccggcc 263  
 |||||||

Sbjct: 876 tgccaccgccccggcc 891

CDS 125..1519

/note="Spliceosome protein SAP-62; splicing factor 3a, subunit 2, 66kD"

>gi|21361291|ref|NM\_005611.2| Homo sapiens retinoblastoma-like 2 (p130) (RBL2), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 249 gccaccgccccggcc 263  
 |||||||

Sbjct: 93 gccaccgccccggcc 107

CDS 70..3489

>gi|4505322|ref|NM\_003941.1| Homo sapiens Wiskott-Aldrich syndrome-like (WASL), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 249 gccaccgccccggcc 263  
 |||||||

Sbjct: 1406 gccaccgccccggcc 1420

CDS 255..1772

>gi|5901937|ref|NM\_007021.1| Homo sapiens decidual protein induced by progesterone (DEPP), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 249 gccaccgccccggcc 263  
 |||||||

Sbjct: 787 gccaccgccccggcc 801

CDS 219..857

>gi|22045278|ref|XM\_001334.5| Homo sapiens POU domain, class 3, transcription factor 1 (POU3F1),  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 250 ccaccgccccggccgg 265  
 |||||||

Sbjct: 1326 ccaccgccccggccgg 1341

CDS 36..1391  
 /product="similar to Octamer-binding transcription factor 6 (OCT-6) (POU-domain transcription factor SCIP) (TST-1)"

>gi|24234749|ref|NM\_012218.2| Homo sapiens interleukin enhancer binding factor 3, 90kDa (ILF3), transcript variant 1, mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 250 ccaccgccccggccg 264

||||||| | | | | | | | |

Sbjct: 2389 ccaccgccccggccg 2375

CDS 267..2951

/note="isoform a is encoded by transcript variant 1; double-stranded RNA-binding protein, 76 kD; M-phase phosphoprotein 4; nuclear factor associated with dsRNA; nuclear factor of activated T-cells, 90 kD; translational control protein 80"

>gi|190749|gb|M96684.1|HUMPURA H.sapiens Pur (pur-alpha) mRNA, complete cds  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 250 ccaccgccccggccg 265

||||||| | | | | | | | |

Sbjct: 163 ccaccgccccggccg 148

CDS 60..1028

/function="sequence-specific single-stranded DNA binding protein"

>gi|4885128|ref|NM\_005194.1| Homo sapiens CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta (CEBPB),  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 250 ccaccgccccggccg 264

||||||| | | | | | | | |

Sbjct: 484 ccaccgccccggccg 498

CDS 1..1038

>gi|24850134|ref|NM\_170695.1| Homo sapiens TGFB-induced factor (TALE family homeobox) (TGIF),  
 Identities = 18/19 (94%)

Query: 253 ccgccccccgcgggtgcccc 271

||||||| | | | | | | | | |

Sbjct: 374 ccgccccccgcggagcccc 356

CDS 304..1509

>gi|20805946|gb|AY083269.1| Homo sapiens transcription factor mammalian MafA gene, complete cds  
 Identities = 18/19 (94%)

Query: 253 ccgccccccgcgggtgcccc 271

||||||| | | | | | | | | |

Sbjct: 236 ccgccccccgcgggtgcccc 218

CDS 1..1059

>gi|5058992|gb|U66095.1|U66095 Homo sapiens cell-line THP-1 GTP cyclohydrolase I mRNA, complete  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 257 ccccgccgggtgcccc 271

||||||| | | | | | | | |

Sbjct: 177 ccccgccgggtgcccc 163

CDS 145..846

>gi|4507750|ref|NM\_001071.1| Homo sapiens thymidylate synthetase (TYMS), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 261 gccgggtgcccgtgcg 275  
|||||||  
Sbjct: 267 gccgggtgcccgtgcg 253  
CDS 106..1047

>gi|17511946|gb|BC018929.1|BC018929 Homo sapiens, Similar to T-cell death  
associated gene, clone  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 261 gccgggtgcccgtgcg 275  
|||||||  
Sbjct: 1029 gccgggtgcccgtgcg 1015  
CDS 279..1058

>gi|6679302|ref|NM\_007350.1| Homo sapiens pleckstrin homology-like domain,  
family A, member 1(PHLDA1), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 261 gccgggtgcccgtgcg 275  
|||||||  
Sbjct: 1333 gccgggtgcccgtgcg 1319  
CDS 160..1362

>gi|23097243|ref|NM\_152891.1| Homo sapiens serine protease EOS (EOS), mRNA  
Identities = 19/20 (95%)

Query: 263 cgggtccccgtgcgaccggtg 282  
|||||||  
Sbjct: 385 cgggtccccgtgcgacgggtg 404  
CDS 69..923

>gi|20555609|ref|XM\_165720.1| Homo sapiens HCR (a-helix coiled-coil rod  
homologue) (HCR), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 275 gaccgggtggtaggtggtag 289  
|||||||  
Sbjct: 1573 gaccgggtggtaggtggtag 1559  
CDS 80..2428

>gi|10947055|ref|NM\_020987.1| Homo sapiens ankyrin 3, node of Ranvier (ankyrin  
G) (ANK3), transcript variant 1, mRNA  
Identities = 21/21 (100%)

Query: 280 gtgggtggtagtggtaggtggtag 300  
|||||||  
Sbjct: 12113 gtgggtggtagtggtaggtggtag 12093

Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtgggtggtagtggtaggtggtag 300  
|||||||  
Sbjct: 12096 ggtgggtggcagtggtaggtggtag 12075

Identities = 18/18 (100%)

Query: 279 ggtgggtggtagtggtaggtggtag 296

10/539535

|||||||||||||||  
Sbjct: 12123 ggtggtggttagtggtggt 12106

Identities = 20/22 (90%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtgg 300  
||||||| ||| ||| |||||  
Sbjct: 12111 ggtggtagtggtggtggtggtg 12090

Identities = 19/21 (90%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtgg 299  
||||||| ||| ||| |||||  
Sbjct: 12126 ggtggtggtggtagtggtggt 12106

Identities = 13/13 (100%)

Query: 279 ggtggtggttagtg 291  
||||||| ||| |||||  
Sbjct: 12081 ggtggtggttagtg 12069  
CDS 193..13326

>gi|7662227|ref|NM\_014841.1| Homo sapiens synaptosomal-associated protein, 91kDa homolog (mouse) (SNAP91), mRNA  
Identities = 20/20 (100%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtgg 298  
||||||| ||| ||| |||||  
Sbjct: 1890 ggtggtggttagtggtggtgg 1871  
CDS 244..2967

Identities = 14/14 (100%)

Query: 279 ggtggtggttagtgg 292  
||||||| ||| |||||  
Sbjct: 717 ggtggtggttagtgg 704

Identities = 19/21 (90%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggt 299  
||||||| ||| ||| |||||  
Sbjct: 729 ggtggtagtggtggtgg 709  
CDS 320..1168

>gi|5453935|ref|NM\_006236.1| Homo sapiens POU domain, class 3, transcription factor 3 (POU3F3),  
Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtgg 300  
||||||| ||| ||| |||||  
Sbjct: 829 ggtggtggtggtggtgg 808  
CDS 1..1503

>gi|21396478|ref|NM\_005924.2| Homo sapiens mesenchyme homeo box 2 (growth arrest-specific homeo box) (MEOX2), mRNA  
Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtgggtggtagtggtggtg 300  
||||||| ||||||| |||||||  
Sbjct: 404 ggtgggtggtagtggtggtg 383

Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtgggtggtagtggtggtg 300  
||||||| ||||||| |||||||  
Sbjct: 407 ggtgggtggtagtggtggtg 386

Identities = 20/22 (90%)

Query: 279 ggtgggtggtagtggtggtg 300  
||||||| ||||||| |||||||  
Sbjct: 416 ggtggtgatggtaggtggtg 395  
CDS 182..1093

>gi|21361336|ref|NM\_001969.2| Homo sapiens eukaryotic translation initiation factor 5 (EIF5), mRNA

Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtgggtggtagtggtggtg 300  
||||||| ||||||| |||||||  
Sbjct: 1022 ggtgggtggtagtggtggtg 1001

Identities = 19/20 (95%)

Query: 281 tggtagtggtagtggtg 300  
||||||| ||||||| |||||  
Sbjct: 1023 tggtagtggtagtggtg 1004  
CDS 469..1764

>gi|12597624|ref|NM\_012068.2| Homo sapiens activating transcription factor 5 (ATF5), mRNA  
Identities = 20/20 (100%)

Query: 281 tggtagtggtagtggtg 300  
||||||| ||||||| |||||  
Sbjct: 730 tggtagtggtagtggtg 711

>gi|20127494|ref|NM\_006237.2| Homo sapiens POU domain, class 4, transcription factor 1 (POU4F1),  
Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtgggtggtagtggtggtg 300  
||||||| ||||||| |||||||  
Sbjct: 553 ggtgggtggtagtggtggtg 532

Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtgggtggtagtggtggtg 300  
||||||| ||||||| |||||||  
Sbjct: 556 ggtgggtggtagtggtggtg 535

Identities = 19/20 (95%)

10/539535

Query: 281 tggtgtggtagtgtgggtgg 300  
           ||||||| ||||||| |||||  
 Sbjct: 560 tggtgtggtagtgtgggtgg 541  
   CDS           235..1497  
 >gi|20379115|gb|AF498971.1| Homo sapiens small GTP binding protein RhoB (ARHB)  
 mRNA, complete  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 299 tggtgtggtggc 313  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 23 tggtgtggtggc 37  
   CDS           1..591  
 >gi|190939|gb|M38453.1|HUMRAS1G Human ras transforming protein gene, exon 1  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 299 tggtgtggtggc 313  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 149 tggtgtggtggc 163  
   exon           133..243  
 >gi|20544140|ref|NM\_003185.2| Homo sapiens TAF4 RNA polymerase II, TATA box  
 binding protein(TBP)-associated factor, 135kDa (TAF4), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tggtgtggtggc 312  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 125 tggtgtggtggc 112  
   CDS           1..3252  
 >gi|21361862|ref|NM\_033104.2| Homo sapiens stonin 2 (STN2), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tggtgtggtggc 312  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 2110 tggtgtggtggc 2097  
   CDS           202..2919  
 >gi|22597105|gb|AF521671.1| Homo sapiens SWI/SNF chromatin remodeling complex  
 subunit OSA2  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tggtgtggtggc 312  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 68 tggtgtggtggc 55  
   CDS           <1..6498  
 >gi|22051956|ref|XM\_113625.2| Homo sapiens similar to Antrax toxin receptor  
 precursor (Tumor endothelial marker 8) (LOC195977), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tggtgtggtggc 312  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 411 tggtgtggtggc 398  
   CDS           251..1171  
 >gi|17863992|gb|AF449430.1|AF449430 Homo sapiens endocytosis protein HSTNB  
 variant mRNA, complete cds  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tggtgtggtggc 312

```

|||||||  

Sbjct: 2110 tggtgtggtggtggc 2097
      CDS          202..2919
>gi|11065969|gb|AF193855.1|AF193855  Homo sapiens zinc finger protein of
cerebellum ZIC2 (ZIC2) mRNA,
Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tggtgtggtggtggc 312
|||||||  

Sbjct: 701 tggtgtggtggtggc 688
      CDS          1..1599
>gi|17474021|ref|XM_058523.1|  Homo sapiens similar to MDM2 variant FB29
(LOC121015), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 302 tggtgtggcgccc 315
|||||||  

Sbjct: 117 tggtgtggcgccc 104
      CDS          26..418
>gi|21361620|ref|NM_002633.2|  Homo sapiens phosphoglucomutase 1 (PGM1), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 302 tggtgtggcgccc 315
|||||||  

Sbjct: 383 tggtgtggcgccc 396
      CDS          214..1902
>gi|6979929|gb|AF221759.1|AF221759  Homo sapiens Maml mRNA, partial cds
Identities = 14/14 (100%)

Query: 303 ggtggtgccgggt 316
|||||||  

Sbjct: 1643 ggtggtgccgggt 1630
      CDS          <1..2682
>gi|4505736|ref|NM_002621.1|  Homo sapiens properdin P factor, complement
(PFC), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 306 ggtggcggtact 320
|||||||  

Sbjct: 1493 ggtggcggtact 1480
      CDS          243..1652
>gi|20127484|ref|NM_005654.2|  Homo sapiens nuclear receptor subfamily 2, group
F, member 1 (NR2F1), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 319 tagcgcgacgtgg 332
|||||||  

Sbjct: 705 tagcgcgacgtgg 692
      CDS          98..1369
/note="Transcription factor COUP 1 (chicken ovalbumin upstream promoter 1,;
transcription factor COUP 1"

>gi|16418382|ref|NM_052876.1|  Homo sapiens transcriptional repressor NAC1
(NAC1), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

```

Query: 326 acgtggcgaccagt 340  
|||||||||||||||  
Sbjct: 404 acgtggcgaccagt 418  
CDS 127..1710  
/note="contains POZ domain"

>gi|16445431|ref|NM\_033662.1| Homo sapiens WD repeat domain 4 (WDR4), transcript variant 3, mRNA  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 328 gtggcgaccagtggc 343  
|||||||||||||||  
Sbjct: 882 gtggcgaccagtggc 897  
CDS 363..1163  
/note="isoform 2 is encoded by transcript variant 3; WD repeat-containing protein 4"

>gi|22027497|ref|NM\_012295.2| Homo sapiens calcineurin binding protein 1 (CABIN1), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 334 gaccagtggctgctg 348  
|||||||||||||||  
Sbjct: 1787 gaccagtggctgctg 1801  
CDS 128..6790

>gi|20336259|ref|NM\_015866.2| Homo sapiens PR domain containing 2, with ZNF domain (PRDM2), transcript variant 2, mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 336 ccagtggctgctgg 349  
|||||||||||||||  
Sbjct: 3329 ccagtggctgctgg 3316  
CDS 857..5905  
/note="isoform b is encoded by transcript variant 2; zinc-finger DNA-binding protein; retinoblastoma protein-interacting zinc finger protein; MTE-binding protein"

>gi|22042322|ref|XM\_015428.3| Homo sapiens similar to CGI-105 protein (LOC151313), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 337 cagtggctgctggg 350  
|||||||||||||||  
Sbjct: 620 cagtggctgctggg 633  
CDS 11..955

>gi|20270612|ref|NG\_001318.1| Homo sapiens HSP40 pseudogene (HSP40)  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 337 cagtggctgctggg 350  
|||||||||||||||  
Sbjct: 2499 cagtggctgctggg 2486  
misc\_feature 1..2882

>gi|21265045|ref|NM\_139027.1| Homo sapiens a disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin type) with thrombospondin type 1 motif, 13 (ADAMTS13), transcript variant 2, mRNA  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 339 gtggctgctggctggg 355  
 |||||||  
 Sbjct: 3812 gtggctgctggctggg 3828  
 CDS 445..4560  
 (vWF)-cleaving protease, which is responsible for cleaving at the

>gi|22050832|ref|XM\_114863.2| Homo sapiens similar to alpha 2 type IV collagen preproprotein; canstatin (LOC203630), mRNA  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 339 gtggctgctggctgg 354  
 |||||||  
 Sbjct: 450 gtggctgctggctgg 465  
 CDS 1..1425  
 /product="similar to alpha 2 type IV collagen preproprotein; canstatin"

>gi|22064435|ref|XM\_017037.3| Homo sapiens suppressor of Ty 6 homolog (S. cerevisiae) (SUPT6H), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 340 tggctgctgggctgg 354  
 |||||||  
 Sbjct: 4624 tggctgctgggctgg 4610  
 CDS 161..4972

>gi|20149786|gb|AF039196.3| Homo sapiens putative single zinc finger transcription factor protein (hairless) mRNA, complete cds  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 341 ggctgctgggctggg 355  
 |||||||  
 Sbjct: 4218 ggctgctgggctggg 4204  
 CDS 1485..5054  
 /note="restricted expression in the brain and skin"

>gi|20070162|ref|NM\_018896.2| Homo sapiens calcium channel, voltage-dependent, alpha 1G subunit (CACNA1G), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 342 gctgctgggctgggt 356  
 |||||||  
 Sbjct: 1440 gctgctgggctgggt 1426  
 CDS 1..7134

>gi|18564486|ref|XM\_094865.1| Homo sapiens similar to Olfactory receptor 4F3 (LOC168119), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 343 ctgctgggctgggtt 357  
 |||||||  
 Sbjct: 49 ctgctgggctgggtt 35  
 CDS 1..978

>gi|4503532|ref|NM\_001417.1| Homo sapiens eukaryotic translation initiation factor 4B (EIF4B), mRNA  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 350 gctgggttacacgtgg 365  
 |||||||  
 Sbjct: 393 gctgggttacacgtgg 378  
 CDS 1..1836

>gi|4557252|ref|NM\_001109.1| Homo sapiens a disintegrin and metalloproteinase domain 8 (ADAM8),  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 360 cgtgggtgggtgttct 374  
|||||||  
Sbjct: 1980 cgtgggtgggtgttct 1994  
CDS 10..2484

>gi|20143921|ref|NM\_133437.1| Homo sapiens titin (TTN), transcript variant novex-2, mRNA  
Identities = 17/18 (94%)

Query: 360 cgtgggtgggtgttctcca 377  
||||| |||||||  
Sbjct: 33611 cgtgatgggtgggtctcca 33628  
CDS 224..81580  
/note="isoform novex-2 is encoded by transcript variant novex-2; connectin; CMH9, included"

>gi|22726242|gb|BC037404.1| Homo sapiens, Similar to formin binding protein 4, clone MGC:36749  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 361 gtgggtgggtgttct 374  
|||||||  
Sbjct: 2743 gtgggtgggtgttct 2730  
CDS 28..3075

>gi|4557234|ref|NM\_000018.1| Homo sapiens acyl-Coenzyme A dehydrogenase, very long chain (ACADVL), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 362 tgggtgggtgttctc 375  
|||||||  
Sbjct: 1818 tgggtgggtgttctc 1831  
CDS 86..2053

>gi|22048275|ref|XM\_063346.3| Homo sapiens similar to polypyrimidine-tract binding protein (LOC122888), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 363 ggtgggtggttctcc 376  
|||||||  
Sbjct: 1345 ggtgggtggttctcc 1332  
CDS 1..1461

>gi|4885524|ref|NM\_005490.1| Homo sapiens SH2 domain containing 3A (SH2D3A),  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 390 ctgcgcgcgtcctcca 414  
|||||||  
Sbjct: 1319 ctgcgcgcgtcctcca 1305  
CDS 152..1882

>gi|22060841|ref|XM\_165659.2| Homo sapiens elaC homolog 1 (E. coli) (ELAC1), mRNA  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 397 ctccatcacccac 412

10/539535

|||||||||||||||  
 Sbjct: 894 ctccatccatcacccac 879  
 CDS 108..1199  
 /product="similar to elaC homolog 1 (E. coli); similar to Escherichia coli elaC; hypothetical protein D29; elac"

>gi|9055315|ref|NM\_012406.2| Homo sapiens PR domain containing 4 (PRDM4), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 397 ctccatccatcacccac 411  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 1109 ctccatccatcacccac 1123  
 CDS 123..2528

>gi|22046620|ref|XM\_069728.3| Homo sapiens similar to beta-glucuronidase (LOC136132), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 399 tcctccatcacccac 413  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 663 tcctccatcacccac 649  
 CDS 1..972

>gi|19263734|gb|BC025358.1| Homo sapiens, ATP-binding cassette, sub-family D (ALD), member 1, mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 400 ctccatcacccac 414  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 2364 ctccatcacccac 2378  
 CDS 400..2637

>gi|11968022|ref|NM\_022473.1| Homo sapiens zinc finger protein 106 (ZFP106), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 400 ctccatcacccac 414  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 3838 ctccatcacccac 3852  
 CDS 336..5987

>gi|18586624|ref|XM\_085530.1| Homo sapiens similar to Adrenoleukodystrophy protein (ALDP)  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 400 ctccatcacccac 414  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 310 ctccatcacccac 324  
 CDS 134..583  
 misc\_feature 161..376

>gi|19743876|ref|NM\_002918.2| Homo sapiens regulatory factor X, 1 (influences HLA class II expression) (RFX1), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 406 cacccaccgctgctg 420  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 220 cacccaccgctgctg 234  
 CDS 93..3032

>gi|19263734|gb|BC025358.1| Homo sapiens, ATP-binding cassette, sub-family D (ALD), member 1,  
Identities = 15/15 (100%)  
Query: 410 ctccatcacccaccc 424  
|||||||  
Sbjct: 2364 ctccatcacccaccc 2378  
CDS 400..2637

>gi|18586624|ref|XM\_085530.1| Homo sapiens similar to Adrenoleukodystrophy protein (ALDP) (LOC146640), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)  
Query: 410 ctccatcacccaccc 424  
|||||||  
Sbjct: 310 ctccatcacccaccc 324  
CDS 134..583

>gi|11968022|ref|NM\_022473.1| Homo sapiens zinc finger protein 106 (ZFP106), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)  
Query: 410 ctccatcacccaccc 424  
|||||||  
Sbjct: 3838 ctccatcacccaccc 3852  
CDS 336..5987

>gi|13184045|ref|NM\_023944.1| Homo sapiens cytochrome P450, subfamily IVF, polypeptide 12 (CYP4F12), mRNA  
Identities = 17/17 (100%)  
Query: 413 cgctgctgagcctgccc 429  
|||||||  
Sbjct: 35 cgctgctgagcctgccc 51  
CDS 31..1605

>gi|23821028|ref|NM\_153486.1| Homo sapiens lactate dehydrogenase D (LDHD), mRNA  
Identities = 20/22 (90%)  
Query: 424 ctgccccacgcgcggctctgc 445  
|||||||  
Sbjct: 637 ctgccccacggggggctgctgc 658  
CDS 58..1518

>gi|24528580|gb|AF079529.2| Homo sapiens cAMP-specific phosphodiesterase 8B1 (PDE8B) mRNA, complete cds; alternatively spliced  
Identities = 15/15 (100%)  
Query: 427 cccgacgcgcggctc 441  
|||||||  
Sbjct: 224 cccgacgcgcggctc 210  
CDS 46..2703

>gi|22001416|ref|NM\_015465.1| Homo sapiens gemin 5 (GEMIN5), mRNA  
SMN complex component; Sm-interacting protein; DKFZP586M1824 protein  
Identities = 14/14 (100%)  
Query: 434 cgccggctcctgccc 447  
|||||||

Sbjct: 17 cgccggctcctgccc 4  
CDS 1..4527

>gi|29459|emb|X68149.1|HSBLR1A Homo sapiens BLR1 gene for Burkitt's lymphoma receptor 1  
Identities = 18/19 (94%)

Query: 434 cgccggctcctgcccagct 452  
||||||| ||||| |||||

Sbjct: 1085 cgccggctcctgaccaggct 1103  
CDS 85..1203

>gi|840783|emb|X68829.1|HSMDCR H.sapiens mRNA for MDR15 protein  
Identities = 18/19 (94%)

Query: 434 cgccggctcctgcccagct 452  
||||||| ||||| |||||

Sbjct: 1154 cgccggctcctgaccaggct 1172  
CDS 289..1272

>gi|5032094|ref|NM\_005630.1| Homo sapiens solute carrier family 21 (prostaglandin transporter), member 2 (SLC21A2), mRNA  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 437 ggctcctgcccagctc 453  
||||||| |||||

Sbjct: 88 ggctcctgcccagctc 104  
CDS 84..2015

>gi|4505876|ref|NM\_000445.1| Homo sapiens plectin 1, intermediate filament binding protein 500kDa (PLEC1), mRNA  
Identities = 17/18 (94%)

Query: 438 gtcctgcccagctcct 455  
||||||| |||||

Sbjct: 7156 gtcctgcccagctcct 7139  
CDS 52..13776

/function="high molecular weight cytoskeletal-associated protein which is a component of hemidesmosomes in basal keratinocytes and also a component of the sarcolemma in muscle (HD1)

>gi|22058106|ref|XM\_171754.1| Homo sapiens similar to a disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin type) with thrombospondin type 1 motif, 17 preproprotein (LOC257018), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 438 gtcctgcccagct 452  
||||||| |||||

Sbjct: 91 gtcctgcccagct 77  
CDS 1..420

>gi|4505936|ref|NM\_002693.1| Homo sapiens polymerase (DNA directed), gamma (POLG), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 438 gtcctgcccagc 451  
||||||| |||||

Sbjct: 1953 gtcctgcccagc 1966  
CDS 283..4002

>gi|533527|gb|U10694.1|HSU10694 Human MAGE-9 antigen (MAGE9) gene, complete cds  
Identities = 18/19 (94%)

Query: 438 gtcctgccaagtcctg 456  
||||||| |||||  
Sbjct: 1290 gtcctgcccacgtcctg 1308  
exon 1268..>2845  
CDS 1333..2280

>gi|4758361|ref|NM\_004112.1| Homo sapiens fibroblast growth factor 11 (FGF11), mRNA  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 442 ctgcccagtcctgg 457  
|||||||  
Sbjct: 589 ctgcccagtcctgg 604  
CDS 1..678

>gi|13435128|ref|NM\_022089.1| Homo sapiens putative ATPase (HSA9947), mRNA  
Identities = 17/18 (94%)

Query: 442 ctgcccagtcctggtc 459  
|||||||  
Sbjct: 2555 ctgcccagggtcctggtc 2572  
CDS 35..3577

>gi|24308028|ref|NM\_015296.1| Homo sapiens zizimin1 (zizimin1), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 445 cccaaagtcctgg 458  
|||||||  
Sbjct: 2431 cccaaagtcctgg 2418  
CDS 56..6265  
note="Cdc42 activator"

>gi|22043940|ref|XM\_060678.5| Homo sapiens similar to Synaptotagmin II (SytII) (LOC127833), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 445 cccaaagtcctgg 458  
|||||||  
Sbjct: 540 cccaaagtcctgg 527  
CDS 1..1278

>gi|18599586|ref|XM\_092362.1| Homo sapiens similar to evidence:NAS-hypothetical protein-putative (LOC165086), mRNA  
Identities = 17/18 (94%)

Query: 448 aagtcctggcttaggag 465  
|||||||  
Sbjct: 776 aagtcctggctggag 759  
CDS 1..936

>gi|23336903|tpg|BK000566.1| TPA: Homo sapiens SF3b125 DEAD-box protein mRNA, complete cds,  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 452 tcctggcttaggag 465  
|||||||  
Sbjct: 399 tcctggcttaggag 386

CDS 1..2460

>gi|22052707|ref|XM\_172523.1| Homo sapiens similar to N-formyl peptide receptor (LOC256135), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 460 taggagtaaggcca 473  
|||||||  
Sbjct: 410 taggagtaaggcca 397  
CDS 81..560

>gi|474428|emb|Z31702.1|HSP53DN H.sapiens p5-3 DNA  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 461 aggagtaaggccatgg 476  
|||||||  
Sbjct: 264 aggagtaaggccatgg 279  
1..1464

Non-homologous recombination within the major histocompatibility complex creates a transcribed hybrid sequence

>gi|18550199|ref|XM\_059368.2| Homo sapiens similar to thymidylate kinase family LPS-inducible member; thymidylate kinase homologue (LOC129607), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 467 aaggccatgggcgc 480  
|||||||  
Sbjct: 23 aaggccatgggcgc 10  
CDS 16..1365

>gi|6706902|emb|AL109827.8|HSJ309K20 Human DNA sequence from clone RP1-309K20 on chromosome 20 Contains the gene for a novel protein similar to dysferlin, the SPAG4 gene for sperm associated antigen 4, the CPNE1 gene for Copine I (similar to KIAA0636), the gene KIAA0765 (HRIHFB2091) for an RNA recognition motif (RNP, RRM or RBD domain) containing protein and the 3' end of the NIFS gene for cysteine desulfurase.

Identities = 16/16 (100%)

Query: 468 aggccatgggcgcgc 483  
|||||||  
Sbjct: 7506 aggccatgggcgcgc 7491  
CDS 7357..7540

>gi|21614532|ref|NM\_144957.1| Homo sapiens protease, serine, 21 (testisin) (PRSS21), transcript variant 3, mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 468 aggccatgggcgcg 481  
|||||||  
Sbjct: 102 aggccatgggcgcg 115  
CDS 107..1009

>gi|18087852|ref|NM\_080672.1| Homo sapiens Q9H4T4 like (H17739), mRNA  
Identities = 18/19 (94%)

Query: 469 ggcacatgggcgcggccggc 487  
|||||||  
Sbjct: 141 ggcacatggccggccggc 123  
CDS 136..1815

>gi|790818|gb|L39891.1|HUMPKD1GEN Homo sapiens polycystic kidney disease-associated protein (PKD1) gene, Identities = 16/16 (100%)

Query: 475 gggcgccggccggccgc 490  
|||||||  
Sbjct: 50097 gggcgccggccggccgc 50082  
CDS 49997..50171

>gi|24429581|ref|NM\_153813.1| Homo sapiens friend of GATA-1 (FOG1), mRNA Identities = 14/14 (100%)

Query: 475 gggcgccggccggcc 487  
|||||||  
Sbjct: 2503 gggcgccggccggcc 2490  
CDS 323..3337

>gi|22094134|ref|NM\_032482.1| Homo sapiens histone methyltransferase DOT1L (DOT1L), mRNA Identities = 14/14 (100%)

Query: 476 ggcgcggccggccgc 489  
|||||||  
Sbjct: 2314 ggcgcggccggccgc 2301  
CDS 37..4650  
function="methylates lysine 79 of histone H3"

>gi|4759111|ref|NM\_004207.1| Homo sapiens solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 3 (SLC16A3), mRNA Identities = 14/14 (100%)

Query: 477 ggcgcggccggccgc 490  
|||||||  
Sbjct: 891 ggcgcggccggccgc 904  
CDS 63..1460

>gi|20544351|ref|XM\_005702.8| Homo sapiens wingless-type MMTV integration site family, member 8B (WNT8B), mRNA Identities = 14/14 (100%)

Query: 477 ggcgcggccggccgc 490  
|||||||  
Sbjct: 808 ggcgcggccggccgc 821  
CDS 129..1184

>gi|23452045|gb|AF494409.1| Homo sapiens pantothenate kinase 2 mRNA, complete cds Identities = 15/15 (100%)

Query: 480 cggccggccgcctct 494  
|||||||  
Sbjct: 279 cggccggccgcctct 265  
CDS 7..1719

gi|2213644|gb|U63833.1|HSU63833 Human PAX6 gene, promoter region and exons 1 and 2 Identities = 16/16 (100%)

Query: 482 gccggccgcctctgct 497  
|||||||  
Sbjct: 114 gccggccgcctctgct 129

promoter 1..3274

/note="isoform 2 is encoded by transcript variant 2; ortholog of mouse CNR5; KIAA0345-like 1"  
 >gi|14589892|ref|NM\_001794.2| Homo sapiens cadherin 4, type 1, R-cadherin (retinal) (CDH4), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 483 ccggccgcctctgct 497  
 |||||||

Sbjct: 2841 ccggccgcctctgct 2827  
 CDS 15..2765

This gene is a classical cadherin from the cadherin superfamily. The encoded protein is a calcium-dependent cell-cell adhesion glycoprotein. studies

>gi|11545830|ref|NM\_022114.1| Homo sapiens PR domain containing 16 (PRDM16), mRNA/ Identities = 15/15 (100%)

Query: 483 ccggccgcctctgct 497  
 |||||||

Sbjct: 1638 ccggccgcctctgct 1652  
 gene 1..4376

>gi|14165396|ref|NM\_031865.1| Homo sapiens protocadherin alpha 13 (PCDHA13), transcript variant 2, Identities = 16/16 (100%)

Query: 484 cggccgcctctgctgc 499  
 |||||||

Sbjct: 2268 cggccgcctctgctgc 2253  
 CDS 1..2424

>gi|12697311|emb|AJ295990.1|HSA295990 Homo sapiens mRNA for putative chromatin modulator, alternative splice NSD3L  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 485 ggccgcctctgctgc 499  
 |||||||

Sbjct: 4514 ggccgcctctgctgc 4528  
 CDS 314..4627

/note="alternative splice NSD3L"

<gi|12642816|gb|AF332469.1|AF332469 Homo sapiens putative protein WHSC1L11 (WHSC1L1) mRNA, complete cds, alternatively spliced  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 485 ggccgcctctgctgc 499  
 |||||||

Sbjct: 4719 ggccgcctctgctgc 4733  
 CDS 519..4832

>gi|17474463|ref|XM\_062506.1| Homo sapiens similar to 60S acidic ribosomal protein P2 (LOC121193), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 485 ggccgcctctgctgc 499  
 |||||||

Sbjct: 278 ggccgcctctgctgc 292  
 CDS 1..351  
 product="similar to 60S acidic ribosomal protein P2"

>gi|22035673|ref|NM\_006031.2| Homo sapiens pericentrin 2 (kendrin) (PCNT2), mRNA  
Score = 30.2 bits (15), Expect = 88  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 487 cccgcctctgtgcag 501  
|||||||  
Sbjct: 3442 cccgcctctgtgcag 3428  
CDS 53..10063

The protein encoded by this gene binds to calmodulin and is expressed in the centrosome.

>gi|12620204|gb|AF288398.1|AF288398 Homo sapiens Clorf14 mRNA, complete cds  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 489 gcctctgtgcagatg 504  
|||||||  
Sbjct: 1282 gcctctgtgcagatg 1267  
CDS 69..2246  
note="alternatively spliced"

>gi|9622520|gb|AF173157.1|AF173157 Homo sapiens MSTP098 (MST098) mRNA, complete cds  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 489 gcctctgtgcagatg 504  
|||||||  
Sbjct: 329 gcctctgtgcagatg 314  
CDS 239..460

>gi|22046810|ref|XM\_089096.2| Homo sapiens similar to coxsackievirus and adenovirus receptor-like protein (LOC163724), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 490 cctctgtgcagatg 504  
|||||||  
Sbjct: 578 cctctgtgcagatg 564  
CDS 291..1466  
misc\_feature 552..674

>gi|20070194|ref|NM\_006140.2| Homo sapiens colony stimulating factor 2 receptor, alpha, low-affinity (granulocyte-macrophage) (CSF2RA), mRNA  
Identities = 17/18 (94%)

Query: 512 tctgcgaccagtggcacc 529  
|||||||  
Sbjct: 248 tctgcgaaacagtggcacc 265  
CDS 171..1373  
>gi|15990415|gb|BC015569.1|BC015569 Homo sapiens, Similar to SRp25 nuclear protein,  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 517 gaccagtggcaccg 430  
|||||||  
Sbjct: 406 gaccagtggcaccg 419  
CDS 37..684

>gi|13624213|gb|AF319045.1|AF319045 Homo sapiens contactin-associated protein 2 (CNTNAP2) mRNA, complete  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 517 gaccagtggcacccg 530  
 |||||||  
 Sbjct: 2778 gaccagtggcacccg 2791  
 CDS 141..4136

>gi|14702161|ref|NM\_032421.1| Homo sapiens cytoplasmic linker 2 (CYLN2), transcript variant 2, Identities = 14/14 (100%)

Query: 519 ccagtggcacccggc 532  
 |||||||  
 Sbjct: 314 ccagtggcacccggc 327  
 CDS 328..3363  
 note="synonyms: WSCR4, WBSCR4, CLIP-115, KIAA0291, MGC11333"  
 note="isoform 2 is encoded by transcript variant 2;  
 Williams-Beuren syndrome chromosome region 4"

>gi|22044320|ref|XM\_086178.5| Homo sapiens agrin (AGRN), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 419 ccagtggcacccggc 432  
 |||||||  
 Sbjct: 4325 ccagtggcacccggc 4338  
 CDS 366..6107  
 >gi|4885506|ref|NM\_005468.1| Homo sapiens N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase-like; ILEAL DIPEPTIDYLPEPTIDASE (NAALADASEL), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 520 cagtggcacccggc 533  
 |||||||  
 Sbjct: 1156 cagtggcacccggc 1169  
 CDS 17..2239  
 /function="peptidase"

>gi|23943861|ref|NM\_020378.1| Homo sapiens K562 cell-derived leucine-zipper-like protein 1 (KLP1), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)  
 Query: 523 tggcacccggccgg 538  
 |||||||  
 Sbjct: 486 tggcacccggccgg 500  
 CDS 90..710  
 note="K562 cells-derived leucine-zipper-like protein 1"

>gi|20384683|gb|AY030095.1| Homo sapiens pancreasin mRNA, complete cds  
 Identities = 17/17 (100%)

Query: 524 ggcacccggccggccgg 540  
 |||||||  
 Sbjct: 23 ggcacccggccggccgg 7  
 CDS 1..873  
 note="CAPH2; channel-activating protease 2; tryptic serine protease; similar to marapsin"

>gi|20552317|ref|XM\_096904.4| Homo sapiens Kruppel-like factor 13 (KLF13), Identities = 15/15 (100%)

Query: 525 gcacccggccggccggcc 539  
 |||||||  
 Sbjct: 20 gcacccggccggccggcc 34  
 CDS 47..913

note="synonyms: BTEB3, FKLF2, NSLP1, FKLF-2, RFLAT1, RFLAT-1"  
 /product="similar to Krueppel-like factor 13

>gi|14727714|ref|XM\_045113.1| Homo sapiens astrotactin (ASTN), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 525 gcaccgcccggcc 539  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 72 gcaccgcccggcc 58  
 CDS 15..3899  
 product="similar to KIAA0289"

>gi|22538424|ref|NM\_145691.2| Homo sapiens ATP synthase mitochondrial F1 complex assembly factor 2 (ATPAF2), nuclear gene encoding mitochondrial protein, Identities = 14/14 (100%)

Query: 525 gcaccgcccggc 538  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 947 gcaccgcccggc 960  
 CDS 154..1023

>gi|22065230|ref|XM\_035037.2| Homo sapiens low density lipoprotein receptor-related protein 4 (LRP4), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 526 caccgcccggcc 539  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 2107 caccgcccggcc 2120  
 CDS 232..4839  
 product="similar to MEGF7"

>gi|20545806|ref|XM\_007095.6| Homo sapiens insulin receptor substrate 2 (IRS2), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 526 caccgcccggcc 539  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 3613 caccgcccggcc 3626  
 CDS 516..4532

>gi|4506228|ref|NM\_002809.1| Homo sapiens proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 3 (PSMD3), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 526 caccgcccggcc 539  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 237 caccgcccggcc 250  
 CDS 158..1762

>gi|1657753|gb|U63721.1|HSU63721 Human elastin (ELN) gene, partial cds, and LIM-kinase (LIMK1) gene,  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 526 caccgcccggcc 539  
 |||||||||||||||  
 Sbjct: 23610 caccgcccggcc 23597  
 exon 23511..23730  
 /gene="LIMK1"

>gi|5823551|gb|AF180522.1|AF180522 Homo sapiens intersectin short form 2 (ITSN) mRNA, partial cds

Identities = 14/14 (100%)

Query: 526 caccggccggcc 539  
|||||||  
Sbjct: 158 caccggccggcc 171  
CDS <1..566

>gi|181652|gb|M85247.1|HUMDOPAM H.sapiens dopamine D1A receptor gene, complete exon 1, and exon 2, 5' end  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 531 ccggccggccgttct 543  
|||||||  
Sbjct: 1097 ccggccggccgttct 1110  
misc\_signal 842..1231  
function="negative transcriptional modulator"

>gi|23395757|tsg|BK000395.1| TPA: Homo sapiens aflatoxin B1-aldehyde reductase (AKR7A2) mRNA,  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 544 tcgccaccccccag 567  
|||||||  
Sbjct: 312 tcgccaccccccag 299  
CDS 23..1102  
/note="aldo-keto reductase; serves as a gamma-hydroxybutyrate synthase; the full-length protein is predicted to contain 29 additional amino acids at the N-terminus that have not been recognized previously"

>gi|7706102|ref|NM\_016568.1| Homo sapiens G-protein coupled receptor SALPR; somatostatin and angiotensin-like peptide receptor (SALPR), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 547 ccaccggcccagaag 560  
|||||||  
Sbjct: 781 ccaccggcccagaag 768  
CDS 361..1770  
misc\_feature 697..1527  
note="7tm\_1; Region: 7 transmembrane receptor (rhodopsin family)"

>gi|18568985|ref|XM\_095373.1| Homo sapiens similar to Neutrophil defensin 4 precursor (HNP-4) (HP4) (Defensin, alpha 4) (LOC157295), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 552 gcccagaaggcagcc 565  
|||||||  
Sbjct: 181 gcccagaaggcagcc 194  
CDS 1..375  
misc\_feature 145..243

>gi|22053899|ref|XM\_092083.2| Homo sapiens similar to golgi autoantigen, golgin subfamily a, 2; golgin-95 (LOC163220), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 552 gcccagaaggcagcc 565  
|||||||  
Sbjct: 505 gcccagaaggcagcc 518  
CDS 1..1452

>gi|22053411|ref|XM\_050604.4| Homo sapiens AIE-75 binding protein protein (MCC2), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 553 cccagaaggcagccc 566  
|||||||  
Sbjct: 407 cccagaaggcagccc 420  
CDS 114..2225

>gi|4505326|ref|NM\_000263.1| Homo sapiens N-acetylglucosaminidase, alpha- (Sanfilippo disease IIIB) (NAGLU), mRNA  
Identities = 17/18 (94%)

Query: 553 gcccgagaaggcagccgc 569  
|||||||  
Sbjct: 1609 gcccgagaaggcagccgc 1626  
CDS 333..2564  
/function="one of four enzymes involved in the degradation of heparan sulfate; specifically removes the alpha-N-acetylglucosamine residues"

>gi|15718672|ref|NM\_000683.2| Homo sapiens adrenergic, alpha-2C-, receptor (ADRA2C), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 553 cccagaaggcagccc 566  
|||||||  
Sbjct: 2530 cccagaaggcagccc 2517  
CDS 892..2277  
/note="alpha2-AR-C4"  
/product="alpha-2C-adrenergic receptor"

>gi|15812179|ref|NM\_004926.2| Homo sapiens zinc finger protein 36, C3H type-like 1 (ZFP36L1), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 553 cccagaaggcagccgc 578  
|||||||  
Sbjct: 432 cccagaaggcagccgc 446  
CDS 131..1147  
/note="EGF-response factor 1; early response factor Berg36; zinc finger protein, C3H type, 36-like 1"  
/product="butyrate response factor 1"

>gi|20556994|ref|XM\_039877.5| Homo sapiens mucin 5, subtype B, tracheobronchial (MUC5B), mRNA  
Identities = 17/18 (94%)

Query: 555 cagaaggcagccgcgc 572  
|||||||  
Sbjct: 1580 cagaaggcagccctccgc 1563  
CDS 46..2688

/db\_xref="MIM:600770"  
>gi|22060317|ref|XM\_114498.2| Homo sapiens similar to Tcte-1 peptide (LOC202500), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 556 agaaggcagccgc 569  
|||||||  
Sbjct: 1317 agaaggcagccgc 1330  
CDS 346..1401

>gi|4505032|ref|NM\_000752.1| Homo sapiens leukotriene B4 receptor (LTB4R),  
Identities = 19/20 (95%)/note="Chemokine receptor-like 1

Query: 559 agcagccccggccggcgca 578  
||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 2595 agcaggccggccggcgca 2576 CDS: 1718..2776

>gi|1648869|emb|X98356.1| HSGPCRCO H.sapiens mRNA for G protein-coupled  
receptor  
Identities = 19/20 (95%)

Query: 559 agcagccccggccggcgca 578  
||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 1266 agcaggccggccggcgca 1247 CDS: 389..1447

>gi|5032110|ref|NM\_005634.1| Homo sapiens SRY (sex determining region Y)-box 3  
(SOX3), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 559 agcagccccggccgg 573  
||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 862 agcagccccggccgg 876  
CDS 1..1332

>gi|20548635|ref|XM\_167923.1| Homo sapiens homeobox protein Gsh-1 (Gsh-1),  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 560 gcagccccggccgg 573  
||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 116 gcagccccggccgg 129  
CDS 49..843

>gi|8923792|ref|NM\_017514.1| Homo sapiens likely ortholog of mouse plexin 3  
(PLXN3), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 561 cagccccggccgg 574  
||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 2896 cagccccggccgg 2909  
CDS 185..5800

>gi|9247121|gb|AF284224.1|AF284224 Homo sapiens DMRT2 and terra-like protein  
(DMRT2) bicistronic mRNA,  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 561 cagccccggccggcg 576  
||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 111 cagccccggccggcg 126  
CDS 1..681

/note="putative transcription factor"

>gi|6179565|emb|Y19052.1|HOSA19052 Homo sapiens mRNA for doublesex-like 2  
protein (DSXL-2 gene)  
Identities = 16/16 (100%)  
Strand = Plus / Plus

Query: 561 cagccccggccggcg 576  
||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 565 cagccccggccggcg 580

CDS 455..1135

>gi|14165271|ref|NM\_032409.1| Homo sapiens PTEN induced putative kinase 1 (PINK1), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 561 cagcccgccggccgg 574  
|||||||  
Sbjct: 213 cagcccgccggccgg 200  
CDS 95..1840  
/note="protein kinase BPK"

>gi|21536278|ref|NM\_006371.2| Homo sapiens cartilage associated protein (CRTAP), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 562 agcccgccggccggc 575  
|||||||  
Sbjct: 295 agcccgccggccggc 308  
CDS 12..1217  
The human cartilage associated protein is homologous to the chick and mouse CRTAP genes.

>gi|4504646|ref|NM\_001560.1| Homo sapiens interleukin 13 receptor, alpha 1 (IL13RA1), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 564 cccgcccggcgca 578  
|||||||  
Sbjct: 103 cccgcccggcgca 89  
CDS 44..1327

>gi|4507206|ref|NM\_003130.1| Homo sapiens sorcin (SRI), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 564 cccgcccggcgca 577  
|||||||  
Sbjct: 48 cccgcccggcgca 35  
CDS 13..609

>gi|21735549|ref|NM\_002446.2| Homo sapiens mitogen-activated protein kinase kinase kinase 10 (MAP3K10), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 576 cagcccgccggccggc 590  
|||||||  
Sbjct: 2885 cagcccgccggccggc 2899  
CDS 289..3153  
/note="mixed lineage kinase 2; MKN28 kinase; MKN28 derived nonreceptor\_type serine/threonine kinase"

>gi|18548972|ref|XM\_089318.1| Homo sapiens similar to ATP-dependent DNA helicase MER3 (HFM1 protein) (LOC164045), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 580 ttcttcccgccggcc 593  
|||||||  
Sbjct: 67 ttcttcccgccggcc 80  
CDS 1..2196

10/539535

>gi|13929461|ref|NM\_001497.2| Homo sapiens UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 1 (B4GALT1), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 581 tctcccgccggcg 595  
|||||||||||||||  
Sbjct: 73 tctcccgccggcg 60  
CDS 73..1269

>gi|21359847|ref|NM\_001194.2| Homo sapiens hyperpolarization activated cyclic nucleotide-gated potassium channel 2 (HCN2), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 581 tctcccgccggcg 594  
|||||||||||||||  
Sbjct: 2191 tctcccgccggcg 2204  
CDS 54..2723  
function="pacemaker channel of human heart"  
note="cyclic nucleotide-gated; brain cyclic nucleotide gated channel 2"

>gi|18032269|gb|AF274003.1|AF274003 Homo sapiens splicing-related factor RNPS1 (RNPS1) mRNA, complete cds, alternatively spliced  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 581 tctcccgccggcg 594  
|||||||||||||||  
Sbjct: 46 tctcccgccggcg 33  
CDS 46..894

>gi|4504382|ref|NM\_001528.1| Homo sapiens HGF activator (HGFAC), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 590 cggcggttcttctcg 604  
|||||||||||||||  
Sbjct: 1828 cggcggttcttctcg 1814  
CDS 4..1971

>gi|14196470|ref|NM\_032054.1| Homo sapiens protocadherin gamma subfamily A, 5 (PCDHG5), transcript variant 2, mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 600 ctcggcggttcttct 613  
|||||||||||||||  
Sbjct: 2416 ctcggcggttcttct 2403  
CDS 1..2442  
cadherin ME3"  
/protein\_id="NP\_114443.1"  
These gene clusters have an immunoglobulin-like organization, suggesting that a novel mechanism may be involved in their regulation and expression.

>gi|19923446|ref|NM\_015963.2| Homo sapiens CGI-36 protein (CGI-36), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 600 ctcggcggttcttct 613  
|||||||||||||||  
Sbjct: 947 ctcggcggttcttct 934  
CDS 807..1565

>gi|21314399|gb|AF508782.1| Homo sapiens fibroblast growth factor 10 (FGF10) mRNA, partial cds  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 604 ccgttcttctcaat 617  
 ||||||| |||||

Sbjct: 173 ccgttcttctcaat 160

CDS <1..513

/function="paracrine growth factor for epithelia"

/note="keratinocyte growth factor-2; KGF2; produced by fibroblasts of urinary bladder lamina propria"

>gi|22058975|ref|XM\_172182.1| Homo sapiens similar to Ribosomal protein S5; Minute(1)15D; Minute; transcript e (LOC255793), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 606 gttttctcaatgg 619  
 ||||||| |||||

Sbjct: 405 gttttctcaatgg 392

CDS 1..438

>gi|24797096|ref|NM\_006907.2| Homo sapiens pyrroline-5-carboxylate reductase 1 (PYCR1), nuclear gene encoding mitochondrial protein, transcript variant 1, mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 607 ttcttctcaatgga 620  
 ||||||| |||||

Sbjct: 598 ttcttctcaatgga 585

CDS 279..1238

/note="isoform 1 is encoded by transcript variant 1; P5C reductase"

>gi|4186165|gb|L41919.1|HUMHIC1G Homo sapiens candidate tumor suppressor HIC-1 (HIC-1) gene, complete  
 Identities = 20/21 (95%)

Query: 626 cgccccggccgcgcccgc 646  
 ||||||| ||||| | | |

Sbjct: 2451 cgccccggccgcgcccgc 2431 CDS: 637..2781

Isolation and embryonic expression of the novel mouse gene Hic1, the homologue of HIC1, a candidate gene for the Miller-Dieker syndrome

>gi|23238250|ref|NM\_032862.2| Homo sapiens tigger transposable element derived 5 (TIGD5) mRNA,  
 Identities = 18/19 (94%)

Query: 626 cgccccggccgcgccc 644  
 ||||||| | | | | | |

Sbjct: 510 cgccccggccccgccc 528

CDS 1..1782

>gi|17939629|gb|BC019288.1|BC019288 Homo sapiens, hepatocyte nuclear factor 3, beta, clone  
 Identities = 18/19 (94%)

Query: 626 ..cgccccggccgcgccc 644  
 ||||||| | | | | | |

Sbjct: 284 cgccccggccgagccgc 266

CDS <1..1370

/product="hepatocyte nuclear factor 3, beta"

>gi|22041040|ref|XM\_092478.2| Homo sapiens similar to Gliacolin (LOC165257), mRNA

Identities = 21/23 (91%)

Query: 628 ccccgccggcgccggccacc 650  
           ||||||| ||||| |||||  
 Sbjct: 810 ccccgccggcgccggccaccacc 788  
   CDS           471..1262  
 /product="similar to Gliacolin"

>gi|17974541|gb|AF361354.1|AF361354 Homo sapiens voltage-dependent calcium channel gamma-8 subunit (CACNG8) mRNA, complete cds  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 628 ccccgccggcgccggcc 643  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 1132 ccccgccggcgccggcc 1117  
   CDS           106..1386

>gi|24475868|ref|NM\_153836.1| Homo sapiens cellular repressor of E1A-stimulated genes 2 (CREG2),  
 Identities = 19/20 (95%)

Query: 628 ccccgccggcgccggcc 647  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 177 ccccgccggcgccggcc 158  
   CDS           139..1011

>gi|21237772|ref|NM\_016431.2| Homo sapiens mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 2 (MAPK8IP2), transcript variant 2, mRNA  
 Identities = 19/19 (100%)

Query: 629 cccggccggcgccggcc 547  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 1276 cccggccggcgccggcc 1294  
   CDS           1..2394  
 /note="PRKM8 interacting protein-like; JNK-interacting protein 2; islet-brain 2; JNK MAP kinase scaffold protein JIP2; homologous to mouse JIP-1"

>gi|14971412|ref|NM\_015906.2| Homo sapiens tripartite motif-containing 33 (TRIM33), transcript variant alpha, mRNA  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 629 cccggccggcgccggcc 644  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 267 cccggccggcgccggcc 252  
   CDS           85..3468

>gi|13183792|gb|AF336133.1|AF336133 Homo sapiens CECR2 protein (CECR2) mRNA, complete cds  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 629 cccggccggcgccggcc 644  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 448 cccggccggcgccggcc 433  
   CDS           419..4873  
 >gi|22046663|ref|XM\_047536.6| Homo sapiens obscurin, cytoskeletal calmodulin and titin-interacting RhoGEF (OBSCN), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 631 cggccggcgccggcc 645  
           ||||||| |||||  
 Sbjct: 572 cggccggcgccggcc 558

CDS 45..18518  
 /product="similar to obscurin"

>gi|21707308|gb|BC033826.1| Homo sapiens, purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4, clone MGC:45331 IMAGE:5216449, mRNA, complete cds  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 632 ggccgcgcggccgc 646  
 |||||||  
 Sbjct: 24 ggccgcgcggccgc 10  
 CDS 25..1191  
 /product="purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4"

>gi|21450823|ref|NM\_145056.1| Homo sapiens thymus expressed gene 3-like (MGC15476), mRNA  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 632 ggccgcgcggccgc 647  
 |||||||  
 Sbjct: 879 ggccgcgcggccgc 894  
 CDS 441..1655

>gi|22652729|gb|AF489858.1| Homo sapiens serum amyloid A activating factor 2 mRNA, complete cds  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 632 ggccgcgcggccgc 647  
 |||||||  
 Sbjct: 550 ggccgcgcggccgc 565  
 CDS 113..1594  
 /note="transcription factor SAF-2"

>gi|20558544|ref|XM\_028783.2| Homo sapiens opioid growth factor receptor (OGFR), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 632 ggccgcgcggccgc 646  
 |||||||  
 Sbjct: 174 ggccgcgcggccgc 160  
 CDS 17..2050  
 /product="similar to 7-60 protein"

>gi|22042730|ref|XM\_114346.2| Homo sapiens similar to source of immunodominant MHC-associated peptides (LOC201595), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 633 ggccgcgcggccgc 647  
 |||||||  
 Sbjct: 345 ggccgcgcggccgc 331  
 CDS 200..2680  
 /product="similar to source of immunodominant MHC-associated peptides"

>gi|4507162|ref|NM\_003107.1| Homo sapiens SRY (sex determining region Y)-box 4 (SOX4), mRNA  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 634 ccgcgcgcggccac 649  
 |||||||  
 Sbjct: 972 ccgcgcgcggccac 957  
 CDS 351..1775

gi|23395757|tpg|BK000395.1| TPA: Homo sapiens aflatoxin B1-aldehyde reductase (AKR7A2) mRNA, Identities = 18/19 (94%)

Query: 640 cgcggccaccggccggc 658  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 180 cgccggccagcgccggc 198  
 CDS 23..1102

>gi|5032110|ref|NM\_005634.1| Homo sapiens SRY (sex determining region Y)-box 3 (SOX3), mRNA Identities = 18/18 (100%)

Query: 641 gcccggccaccggccggc 658  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 1044 gcccggccaccggccggc 1061  
 CDS 1..1332

>gi|20589957|ref|NM\_139075.1| Homo sapiens two-pore calcium channel protein 2 (TPC2), mRNA Identities = 15/15 (100%)

Query: 643 ccggcaccggccgg 657  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 160 ccggcaccggccgg 146  
 CDS 102..2360

>gi|16753218|ref|NM\_033224.2| Homo sapiens purine-rich element binding protein B (PURB), mRNA Identities = 15/15 (100%)

Query: 643 ccggcaccggccgg 657  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 480 ccggcaccggccgg 466  
 CDS 14..952

>gi|291945|gb|L12398.1|HUMD4C Homo sapiens dopamine receptor D4 (DRD4) mRNA, complete cds Identities = 15/15 (100%)

Query: 643 ccggcaccggccgg 657  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 502 ccggcaccggccgg 488  
 CDS 1..1404

>gi|19401873|gb|AF479827.1| Homo sapiens protein kinase-like protein mRNA, complete cds Identities = 18/19 (94%)

Query: 644 cgccaccggccggctggg 662  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 1907 cgccaccggccggctggg 1889  
 CDS 278..2614

>gi|7542578|gb|AF241229.1|AF241229 Homo sapiens GITR-D mRNA, complete cds Identities = 15/15 (100%)

Query: 651 gcccggctggggccc 665  
 ||||||| |||||  
 Sbjct: 682 gcccggctggggccc 696 CDS: 1..768

10/539535

>gi|23238193|ref|NM\_148901.1| Homo sapiens tumor necrosis factor receptor superfamily, member 18 (TNFRSF18), transcript variant 2, mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 652 gccgcggctgggccc 666  
|||||||

Sbjct: 820 gccgcggctgggccc 834 CDS: 139..906

>gi|11038623|ref|NM\_004426.1| Homo sapiens polyhomeotic-like 1 (Drosophila) (PHC1), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 671 tcctcacccttgc 685  
|||||||

Sbjct: 1644 tcctcacccttgc 1658  
CDS 210..3224

/note="early development regulator 1; mouse Rae28-like"

>gi|190395|gb|M60494.1|HUMPROFILA Human profilaggrin gene, 3' end  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 678 ccttgccttcgtcca 692  
|||||||

Sbjct: 4236 ccttgccttcgtcca 4222  
exon 949..4447  
CDS 1478..4447

>gi|24475953|ref|NM\_013433.2| Homo sapiens karyopherin beta 2b, transportin (TRN2), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 678 ccttgccttcgtcc 691  
|||||||

Sbjct: 2026 ccttgccttcgtcc 2013  
CDS 292..2955

/note="hypothetical protein FLJ12155"

>gi|8923472|ref|NM\_017852.1| Homo sapiens NALP2 protein (NALP2), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 685 ttctgtccacgtctag 699  
|||||||

Sbjct: 453 ttctgtccacgtctag 439  
CDS 88..3276

/note="PYRIN-Containing APAF1-like"

>gi|10198206|gb|AF298547.1| Homo sapiens nucleotide-binding site protein 1 mRNA, complete cds  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 685 ttctgtccacgtctag 699  
|||||||

Sbjct: 425 ttctgtccacgtctag 411  
CDS 78..3179

/note="NBS1; nucleotide-binding site/leucine-rich repeat (NBS/LRR) family member"

>gi|4504576|ref|NM\_002164.1| Homo sapiens indoleamine-pyrrole 2,3 dioxygenase (INDO), mRNA  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 691 cacgtctagttctggga 707

|||||||  
 Sbjct: 258 cacgtcttagttctggga 274  
 CDS 23..1234

>Numatrin) pseudogene and the MDF1 gene for MyoD family inhibitor (myogenic  
 repressor I-MF  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 697 tagttctgggacctc 711  
 |||||

Sbjct: 64761 tagttctgggacctc 64775  
 CDS complement(64067..64810)  
 /note="dJ696P19.2 (NPM1 (Nucleophosmin, Numatrin) pseudogene)

>gi|22047835|ref|XM\_095174.3| Homo sapiens similar to pol protein (LOC168550),  
 mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 699 gttctgggacacctc 712  
 |||||

Sbjct: 1249 gttctgggacacctc 1262  
 CDS 1..3315

>gi|4506508|ref|NM\_002926.1| Homo sapiens regulator of G-protein signalling 12  
 (RGS12), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 700 ttctgggacacctcc 714  
 |||||

Sbjct: 2786 ttctgggacacctcc 2772 CDS: 55..4185

>gi|22771013|gb|AF542391.1| Homo sapiens selectin P (granule membrane protein  
 140kDa, antigen CD62) (SELP) gene, complete cds  
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 705 ggacctcccgctcaagag 722  
 |||||

Sbjct: 6869 ggacctcctgctcaagag 6886  
 gene <1..>398

>gi|4758621|ref|NM\_004770.1| Homo sapiens potassium voltage-gated channel,  
 Shab-related subfamily, member 2 (KCNB2), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 711 cccgctcaagagcc 724  
 |||||

Sbjct: 1329 cccgctcaagagcc 1316  
 CDS 3..2423

>gi|21595817|gb|BC032731.1| Homo sapiens, Wolf-Hirschhorn syndrome candidate  
 1, Identities = 14/14 (100%)

Query: 713 cgctcaagagccag 726  
 |||||

Sbjct: 1876 cgctcaagagccag 1889  
 source 1..4239

>gi|19172410|gb|AF480461.1| Homo sapiens mixed lineage kinase-related kinase  
 MRK-alpha mRNA,  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 715 ctcagaagccagtg 728

||||||||||||||  
 Sbjct: 2454 ctcaagagccagtg 2467  
 CDS 196..2598

>gi|23272700|gb|BC035910.1| Homo sapiens, mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 interacting protein 2,  
 Identities = 14/14 (100%)

Query:727 tggcacccagaag 740  
 |||||||||||||||

Sbjct: 1758 tggcacccagaag 1771  
 CDS 149..2230

>gi|10947029|ref|NM\_006217.2| Homo sapiens serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade I(neuroserpin), member 2 (SERPINI2), mRNA  
 Identities = 19/20 (95%)

Query:737 gaagtctacttttttcta 756  
 |||||||||||||||

Sbjct: 927 gaagtctacttttgttcta 908  
 CDS 34..1251

>gi|24638453|ref|NM\_170665.1| Homo sapiens ATPase, Ca++ transporting, cardiac muscle, slow twitch 2 (ATP2A2), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query:765 actttgtcaccaac 778  
 |||||||||||||||

Sbjct: 586 actttgtcaccaac 573  
 CDS 111..3239

>gi|21536291|ref|NM\_001081.2| Homo sapiens cubilin (intrinsic factor-cobalamin receptor) (CUBN),  
 Identities = 14/14 (100%)

Query:765 actttgtcaccaac 778  
 |||||||||||||||

Sbjct: 8029 actttgtcaccaac 8042  
 CDS 27..10898

/note="intrinsic factor-cobalamin receptor; intrinsic factor B12-receptor"

>gi|6912355|ref|NM\_012155.1| Homo sapiens echinoderm microtubule associated protein like 2 (EML2),  
 Identities = 14/14 (100%)

Query:766 ctttgtcaccaact 779  
 |||||||||||||||

Sbjct: 1595 ctttgtcaccaact 1608  
 CDS 36..1985

>gi|18597004|ref|XM\_051693.4| Homo sapiens mitogen inducible 2 (MIG2), mRNA  
 Identities = 15/15. (100%)

Query: 768 ttgtcaccaacttct 782  
 |||||||||||||||

Sbjct: 838 ttgtcaccaacttct 852  
 CDS: 238..2280

>gi|3335149|gb|AF055377.1|AF055377 Homo sapiens long form transcription factor C-MAF (c-maf) mRNA,  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 771 tcaccaacttctcg 785  
 |||||||  
 Sbjct: 1864 tcaccaacttctcg 1850  
 CDS 808..2019  
 /note="b-zip transcription factor"

>gi|7304920|ref|NM\_013449.1| Homo sapiens bromodomain adjacent to zinc finger domain, 2A (BAZ2A),  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 800 tgagtggaggacta 813  
 |||||||  
 Sbjct: 1587 tgagtggaggacta 1600  
 CDS 740..6376

>gi|5419653|emb|AL034553.12|HS914P20 Human DNA sequence from clone RP5-914P20 on chromosome 20q13.13-13.2 Contains the gene for activity-dependent neuroprotective protein (ADNP, KIAA0784), a PSMD10 (proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 10) pseudogene, the DPM1 gene fo>  
 Identities = 19/20 (95%)

Query: 803 gtggaggactaataagactt 822  
 |||||||  
 Sbjct: 10723 gtggaggactaatgagactt 10704 misc\_feature: 10509..10953

>gi|14388625|gb|AF243083.1|F243081S03 Homo sapiens intrinsic factor-vitamin B12 receptor (CUBN) gene, exons 5 and 6  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 817 gacttatatactgtcc 832  
 |||||||  
 Sbjct: 809 gacttatatactgtcc 824  
 CDS AF243085.1:692..854

>gi|24527258|gb|AY071904.1| Homo sapiens ribonuclease/angiogenin inhibitor (RNH) mRNA, complete  
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 824 atactgtccgttctttga 841  
 |||||||  
 Sbjct: 532 atactgtcagttctttga 515  
 CDS 1..1386

>gi|9558724|ref|NM\_013291.1| Homo sapiens cleavage and polyadenylation specific factor 1, 160kDa(CPSF1), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 834 ttctttgagggagg 847  
 |||||||  
 Sbjct: 1313 ttctttgagggagg 1300  
 CDS 52..4380

>gi|20143921|ref|NM\_133437.1| Homo sapiens titin (TTN), transcript variant novex-2, mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 838 ttgagggaggacct 851  
 |||||||  
 Sbjct: 56027 ttgagggaggacct 56014  
 CDS 224..81580

/note="isoform novex-2 is encoded by transcript variant novex-2; connectin; CMH9, included"

Query: 839 tgagggaggacctc 852

|||||||

Sbjct: 819 tgagggaggacctc 832

CDS 100..1155

/product="similar to ARP2/3 complex 41 kDa subunit (P41-ARC) (Actin-related protein 2/3 complex subunit 1B)"

>gi|21426828|ref|NM\_144773.1| Homo sapiens G protein-coupled receptor 73-like 1 (GPR73L1), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 848 gaccccccctatgga 861

|||||||

Sbjct: 100 gaccccccctatgga 113 CDS: 1..1155

>gi|21327026|gb|AF506288.1| Homo sapiens prokineticin receptor 2 (PKR2) mRNA, complete cds  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 848 gaccccccctatgga 861

|||||||

Sbjct: 100 gaccccccctatgga 113 CDS 1..1155

>gi|7669541|ref|NM\_013992.1| Homo sapiens paired box gene 8 (PAX8), transcript variant PAX8E,  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 849 acctccctatggac 862

|||||||

Sbjct: 582 acctccctatggac 595 CDS 161..1024

>gi|16160856|ref|XM\_007763.5| Homo sapiens myosin VA (heavy polypeptide 12, myoxin) (MYOSA), mRNA  
Identities = 19/20 (95%)

Query: 863 cgtaactggagagtctgggg 882

|||||

Sbjct: 724 cgtaagtggagagtctgggg 743

CDS 245..5812

/product="similar to Myosin Va (Myosin 5A) (Dilute myosin heavy chain, non-muscle) (Myosin heavy chain 12) (Myoxin)"

>gi|4757807|ref|NM\_001683.1| Homo sapiens ATPase, Ca++ transporting, plasma membrane 2 (ATP2B2),  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 865 taactggagagtctg 879

|||||||

Sbjct: 1298 taactggagagtctg 1312

CDS 577..4173

/note="PMCA-2"

>gi|16904386|ref|NM\_013363.2| Homo sapiens procollagen C-endopeptidase enhancer 2 (PCOLCE2), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 867 actggagagtctgg 880

|||||||

Sbjct: 308 actggagagtctgg 321  
 CDS 197..1444

>gi|7706548|ref|NM\_016507.1| Homo sapiens CDC2-related protein kinase 7 (CRK7), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query:868 ctggagagtctgggg 882  
 |||||||  
 Sbjct: 2092 ctggagagtctgggg 2078  
 CDS 34..4506

>gi|24850118|ref|NM\_170605.1| Homo sapiens PDZ domain protein (Drosophila inaD-like) (INADL), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query:868 ctggagagtctggg 881  
 |||||||  
 Sbjct: 1570 ctggagagtctggg 1557  
 CDS 1..5406

>gi|21536251|ref|NM\_015678.2| Homo sapiens neurobeachin (NBEA), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Strand = Plus / Plus

Query:868 ctggagagtctggg 879  
 |||||||  
 Sbjct: 3008 ctggagagtctggg 3021  
 CDS 207..9047

>gi|21434742|gb|AF467288.1| Homo sapiens BCL8B protein (BCL8B) mRNA, complete  
 Identities = 14/14 (100%)

Query:868 ctggagagtctggg 881  
 |||||||  
 Sbjct: 3008 ctggagagtctggg 3021  
 CDS 207..9047

>gi|7662409|ref|NM\_014963.1| Homo sapiens KIAA0963 protein (KIAA0963), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 868 ctggagagtctgggg 882  
 |||||||  
 Sbjct: 2832 ctggagagtctgggg 2846 CDS 216..4316

>gi|22041826|ref|XM\_172259.1| Homo sapiens similar to 60S ribosomal protein L21 (LOC255888), mRNA  
 Identities = 16/16 (100%)

Query:869 tggagagtctggggtt 884  
 |||||||  
 Sbjct: 530 tggagagtctggggtt 545  
 CDS 1..579

>gi|17157996|ref|NM\_058167.1| Homo sapiens ubiquitin-conjugating enzyme E2, J2 (UBE2J2), mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query:870 ggagagtctgggg 883  
 |||||||  
 Sbjct: 652 ggagagtctgggg 639  
 CDS 205..879

10/539535

>gi|23308602|ref|NM\_015460.1| Homo sapiens myosin VIIA and Rab interacting protein (MYRIP), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query:871 gagagtctgggttc 885  
|||||||||||||||  
Sbjct: 1861 gagagtctgggttc 1847  
CDS 137..2716

>gi|6912705|ref|NM\_012455.1| Homo sapiens SEC7 homolog (TIC), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query:872 agagtctgggttc 885  
|||||||||||||||  
Sbjct: 762 agagtctgggttc 749  
CDS 64..3234  
/note="ADP-ribosylation factor guanine nucleotide-exchange factor 6"

>gi|22051239|ref|XM\_048346.4| Homo sapiens insulin receptor (INSR), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query:884 tcgttgaccgtctt 897  
|||||||||||||||  
Sbjct: 3251 tcgttgaccgtctt 3238  
CDS 181..4218

>gi|4507600|ref|NM\_003807.1| Homo sapiens tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 14 (TNFSF14), mRNA  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 901 cggctttacttcgg 914  
|||||||||||||||  
Sbjct: 742 cggctttacttcgg 755  
CDS 49..771

>gi|2745709|gb|U89310.1|AH005788S02 Homo sapiens nucleophosmin phosphoprotein (NPM) gene, exon 2  
Identities = 14/14 (100%)

Query: 908 acttcggtttttt 921  
|||||||||||||||  
Sbjct: 411 acttcggtttttt 424 CDS U89311.1:416..535

>gi|20521002|dbj|AB002333.2| Human mRNA for KIAA0335 gene, partial cds  
Identities = 18/18 (100%)

Query: 914 gtttttttaatttcttc 931  
|||||||||||||||  
Sbjct: 216 gtttttttaatttcttc 233 CDS <829..5283

>gi|19923778|ref|NM\_006479.2| Homo sapiens RAD51-interacting protein (PIR51), mRNA  
Identities = 16/16 (100%)

Query:915 ttcttttaatttctt 930  
|||||||||||||||  
Sbjct: 703 ttcttttaatttctt 688  
CDS 51..1058

>gi|4505610|ref|NM\_002582.1| Homo sapiens poly(A)-specific ribonuclease (deadenylation nuclease) (PARN), mRNA  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 915 ttcttttaatttctt 930  
|||||||  
Sbjct: 1897 ttcttttaatttctt 1882  
CDS 58..1977

>gi|20538519|ref|XM\_057659.6| Homo sapiens similar to RIKEN cDNA 2310005N03 (LOC116228), mRNA  
Identities = 18/18 (100%)

Query: 915 ttcttttaatttctt 932  
|||||||  
Sbjct: 629 ttcttttaatttctt 612 CDS 337..693

>gi|18579348|ref|XM\_090294.1| Homo sapiens similar to 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase (LOC160428), mRNA  
Identities = 19/19 (100%)

Query: 916 tcttttaatttcttctac 934  
|||||||  
Sbjct: 2263 tcttttaatttcttctac 2245 CDS 1..2928

>gi|4503510|ref|NM\_003758.1| Homo sapiens eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 1 alpha, 35kDa (EIF3S1), mRNA  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 916 tcttttaatttcttct 932  
|||||||  
Sbjct: 352 tcttttaatttcttct 336 CDS 61..837

>gi|23271901|gb|BC036021.1| Homo sapiens, similar to Bmp2-inducible kinase, mRNA  
Identities = 20/21 (95%)

Query: 917 cttttaatttcttctactac 937  
|||||||  
Sbjct: 796 cttttaatttcttctactac 776  
CDS 128..2116

>gi|18375633|ref|NM\_004639.2| Homo sapiens HLA-B associated transcript 3 (BAT3), transcript variant 1, mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 931 ctactacgaggttct 945  
|||||||  
Sbjct: 1172 ctactacgaggttct 1186 CDS 285..3683

>gi|17485359|ref|XM\_066371.1| Homo sapiens LOC129184 (LOC129184), mRNA  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 1016 tgtgggtgccagggtc 1031  
|||||||  
Sbjct: 866 tgtgggtgccagggtc 851 CDS 1..960

>gi|12653994|gb|BC000795.1|BC000795 Homo sapiens, hypothetical protein  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 1017 gtgggtgccagggtc 1031  
|||||||

Sbjct: 306 gtgggtgccagggtc 292 CDS 49..1260

>gi|1668741|emb|X90762.1|HSHHA5GEN Homo sapiens hHa5 gene  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 1018 tgggtgccagggtctc 1033  
|||||||  
Sbjct: 1215 tgggtgccagggtctc 1230 exon 1112..1365 number=8

>gi|18582587|ref|XM\_090689.1| Homo sapiens similar to S antigen precursor - malaria parasite(Plasmodium falciparum) (strain Wellcome) (LOC161088), mRNA  
Identities = 19/20 (95%)

Query: 1019 ggggtgccagggtctcagggtg 1038  
|||||||  
Sbjct: 372 ggggtgccagggtctcagggtg 353 CDS 1..1221 Chr. 13

>gi|9863549|emb|AL157718.10| Human DNA sequence from clone RP11-23O13 on chromosome 20 Contains a putative novel gene, a CpG island, ESTs and GSSs, complete sequence [Homo sapiens]  
Identities = 19/20 (95%)

Query: 1021 gtgccagggtctcagggtgca 1040  
|||||||  
Sbjct: 40364 gtgccagggtctcagggtgca 40345  
misc\_feature complement(40329..40883) note="match: GSS: Em: AQ606491"

>gi|35258|emb|X13345.1|HSPAII19 Human gene for plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) exon 9/ Identities = 19/20 (95%)

Query: 1024 ccagggtctcagggtgcagac 1043  
|||||||  
Sbjct: 264 ccagggtctcagggtggagac 245  
precursor\_RNA <1..1835 /note="primary transcript"

>gi|18581862|ref|XM\_090590.1| Homo sapiens LOC160925 (LOC160925), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 1064 agcaaactctcgagtt 1078  
|||||||  
Sbjct: 374 agcaaactctcgagtt 360 CDS 1..870

>gi|24660383|gb|BC039025.1| Homo sapiens, Similar to tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, epsilon polypeptide, clone MGC:47805 IMAGE:6070099, mRNA, Identities = 17/17 (100%)

Query: 1077 tttcgattttgtgtgg 1093  
|||||||  
Sbjct: 58 tttcgattttgtgtgg 74  
CDS 107..883

>gi|18253109|dbj|AB065437.1| Homo sapiens C1s gene for complement C1s, promoter region and exon 1  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 1112 ttttcggaaagtca 1124 (Exon wechsel)  
|||||||  
Sbjct: 2584 ttttcggaaagtca 2570  
promoter 1..2826

/function="complement activation"  
 exon 2827..2978

>gi|22047240|ref|XM\_175003.1| Homo sapiens LOC256626 (LOC256626), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 1785 gaaaaagtgacctgaa 1799  
 |||||||  
 Sbjct: 1768 gaaaaagtgacctgaa 1754 CDS 1..1914

>gi|11990557|gb|AF170052.1|AF170052 HIV-2 isolate 97227 from France envelope  
 glycoprotein (env) gene, partial cds  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 1825 gtatggcctctgtcc 1839  
 |||||||  
 Sbjct: 866 gtatggcctctgtcc 852 CDS <1..>2243

>gi|4502528|ref|NM\_000721.1| Homo sapiens calcium channel, voltage-dependent, alpha 1E subunit(CACNA1E), mRNA, note="brain specific"  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 1827 atggcctctgtccgg 1841  
 |||||||  
 Sbjct: 1433 atggcctctgtccgg 1419 CDS 166..6921

>gi|20559017|ref|XM\_166786.1| Homo sapiens similar to SUMO-1 activating enzyme subunit 1; SUMO-1 activating enzyme E1 N subunit; sentrin/SUMO-activating protein AOS1; ubiquitin-like protein SUMO-1 activating enzyme (LOC220311), mRNA  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 1842 gatacacacgggaaag 1857  
 |||||||  
 Sbjct: 886 gatacacacgggaaag 901 CDS 1..1134

/gene="LOC220311">gi|4758617|ref|NM\_004693.1| Homo sapiens cytokeratin type II (K6HF), mRNA  
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 1845 acacacgggaaagctg 1860  
 |||||||  
 Sbjct: 366 acacacgggaaagctg 351 CDS 19..1674

>gi|17149843|ref|NM\_057092.1| Homo sapiens FK506 binding protein 2, 13kDa (FKBP2), transcript variant 2, mRNA  
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 1847 acacgggaaagctg 1860  
 |||||||  
 Sbjct: 269 acacgggaaagctg 282  
 CDS 103..531  
 misc\_feature 223..504  
 /note="FKBP; Region: FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase"

>gi|20127426|ref|NM\_002252.2| Homo sapiens potassium voltage-gated channel, delayed-rectifier, subfamily S, member 3 (KCNS3), mRNA  
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 1847 acacgggaaagctgc 1861  
 |||||||  
 Sbjct: 653 acacgggaaagctgc 667

10/539535

CDS 403.1878

>gi|24981010|gb|BC039695.1 HOMO sapiens, Janus kinase 2 (a protein tyrosine kinase), clone  
Identities = 14/14 (100%)

Query:1865 cattattcttcaaa 1878  
||| ||| ||| |||  
Sbjct: 3354 cattattcttcaaa 3341  
CDS 108..3497

>gi|20149552|ref|NM\_004414.3| Homo sapiens Down syndrome critical region gene 1 (DSCR1), mRNA  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 1872 cttcaaacgagtcag 1886  
|||  
Sbjct: 215 cttcaaacgagtcag 229  
CDS 66..659

>gi|6648540|gb|U53821.1|HSU53821 Homo sapiens adapt78 protein gene, partial  
Identities = 15/15 (100%)

Query: 1872 cttcaaacgagtcag 1886  
|||  
Sbjct: 219 cttcaaacgagtcag 233  
CDS 70..>562

>gi|8922685|ref|NM\_018228.1| Homo sapiens hypothetical protein FLJ10811  
(FLJ10811), mRNA  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 1955 ctggaaagagctggggcc 1971  
||| ||| ||| ||| |||  
Sbjct: 923 ctggaaagagctggggcc 907 CDS 146..2254

>gi|17298301|gb|AF283402.1|F283327S74 Homo sapiens candidate tumor suppressor protein (LRP1B) gene, exon 76  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 2034 ttcttaaaattttact 2050  
|||  
Sbjct: 307 ttcttaaaattttact 291 CDS  
join(AF283376.1:<285..407,AF283377

>gi|20545629|ref|XM\_121159.1| Homo sapiens LOC206321 (LOC206321), mRNA  
Identities = 25/28 (89%)

Query: 2133 agatagaacgagacattagagcaaagtt 2161  
Sbjct: 527 agatagaacgagatctgagagcaaagtt 500 CDS 1..1176

>gi|22054646|ref|XM\_069110.2| Homo sapiens similar to hypothetical protein  
FLJ23231 (LOC134973), mRNA  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 2155 caaagttttgttcca 2170  
|||  
Sbjct: 915 caaagttttgttcca 930 CDS 1..2475

>gi|6382057|ref|NM\_007313.1| Homo sapiens v-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1(ABL1), transcript variant b, mRNA  
Identities = 18/18 (100%)

Query: 2163 ttgttccacaaaaacatt 2180  
|||||||||||||||||

Sbjct: 135 ttgttccacaaaaacatt 118 CDS 1..3447

>gi|3095103|gb|AF044579.1|AF044579 Homo sapiens translocation related non-coding gene (TNRG10) mRNA, complete sequence  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 2164 tggccacaaaaacatt 2180

|||||||||||||||||

Sbjct: 2361 tggccacaaaaacatt 2345

gene 1..2726

repeat\_region 326..547

repeat\_region 2599..2709

#### Intron (BB/SHR)

>gi|5453963|ref|NM\_006251.1| Homo sapiens protein kinase, AMP-activated, alpha 1 catalytic subunit (PRKAA1), mRNA

Identities = 16/16 (100%)

Query: 316 tcttctgagcactcaa 331

|||||||||||||||||

Sbjct: 943 tcttctgagcactcaa 928

CDS 24..1676

note="AMPK alpha 1; Protein kinase, AMP-activated, catalytic, alpha-1"

>gi|23503326|ref|NM\_018682.2| Homo sapiens myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 5 (trithorax homolog, Drosophila) (MLL5), mRNA  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 365 catcagatgaaggatc 380

|||||||||||||||||

Sbjct: 1003 catcagatgaaggatc 988

CDS 202..5778

/note="contains PHD and SET domains; similar to Drosophila trithorax"

/product="myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 5"

>gi|1418773|emb|X97186.1|HSE14 H.sapiens mRNA for E14 protein  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 428 gaagacaaagagttctt 444

|||||||||||||||||

Sbjct: 1509 gaagacaaagagttctt 1493

CDS 35..4318

>gi|1381666|gb|U58852.1|HSU58852 Human NPAT mRNA, complete cds  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 428 gaagacaaagagttctt 444

|||||||||||||||  
Sbjct: 1475 gaagacaaaagagttctt 1459  
CDS 1..3528  
/note="predicted amino acids have three regions which share similarity to annotated domains of transcriptional factor oct-1, nucleolus-cytoplasm shuttle phosphoprotein and protein kinases"

>gi|22065878|ref|XM\_040846.5| Homo sapiens nuclear protein, ataxia-telangiectasia locus (NPAT),  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 428 gaagacaaaagagttctt 444  
|||||||||||||||  
Sbjct: 1509 gaagacaaaagagttctt 1493  
CDS 35..4318  
/product="similar to NPAT"

>gi|18079322|ref|NM\_080612.1| Homo sapiens GRB2-associated binding protein 3 (GAB3), mRNA  
Identities = 17/17 (100%)

Query: 578 ggggtccaaagaccagag 594  
|||||||||||||||  
Sbjct: 1254 ggggtccaaagaccagag 1238  
CDS 33..1793  
/function="differentiation signaling"

>gi|20270211|ref|NM\_033396.1| Homo sapiens tankyrase 1 binding protein 1, 182kDa (TNKS1BP1), mRNA

Identities = 16/16 (100%)

Query: 583 ccaagaccagagtaaa 598

|||||||||||||||

Sbjct: 2725 ccaagaccagagtaaa 2740  
CDS 308..5497  
/product="tankyrase 1-binding protein of 182 kDa"

>gi|21626462|ref|NM\_000038.2| Homo sapiens adenomatosis polyposis coli (APC),  
Identities = 16/16 (100%)

Query: 616 gaccaaaaaaggaactg 631  
|||||||||||||||  
Sbjct: 8232 gaccaaaaaaggaactg 8247  
CDS 39..8570  
/product="adenomatosis polyposis coli"

JC05 Rec'd PCT/PTO 17 JUN 2005  
10/539535

## SEQUENZPROTOKOLL

<110> Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald  
<120> Verwendung des multifunktionellen Transkriptionsfaktors Yin-Yang-1 und Varianten davon zur Behandlung von Erkrankungen, insbesondere von Typ-1 Diabetes  
<130> P 62096  
<160> 8  
<170> PatentIn version 3.1  
<210> 1  
<211> 2256  
<212> DNA  
<213> Rattus norv.  
<220>  
<221> CDS  
<222> (73)..(1125)  
<223> YY1 (BB/OK)  
  
<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1759)..(1917)  
<223> Zinkfinger  
  
<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (955)..(1125)  
<223> Zinkfinger  
  
<220>  
<221> Intron  
<222> (1126)..(1758)  
<223>  
  
<220>  
<221> promoter  
<222> (1)..(72)  
<223>  
  
<220>  
<221> CDS  
<222> (1759)..(1938)  
<223> YY1 (BB/OK)

<400> 1  
 ccgcctcctc gccccccctc ccgcagccca ggagccgagg ctggcgccc cgtggcggcg 60  
 gagccctcag cc atg gcc tcg ggc gac acc ctc tac att gcc acg gac ggc 111  
 Met Ala Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly  
 1 5 10  
 tcg gag atg cca gcc gag átc gtg gaa ctg cat gag att gag gtg gag 159  
 Ser Glu Met Pro Ala Glu Ile Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu  
 15 20 25  
 acc atc ccg gtg gag act atc gag acc acg gtg gtg ggc gag gag gag 207  
 Thr Ile Pro Val Glu Thr Ile Glu Thr Val Val Gly Glu Glu Glu  
 30 35 40 45  
 gac gac gac gaa gac gac gag gat ggt ggc ggc gga gac cac ggt ggc 255  
 Asp Asp Asp Glu Asp Asp Glu Asp Gly Gly Gly Asp His Gly Gly  
 50 55 60  
 ggg ggc ggc cac ggg cac gct ggc cac cac cat cac cac cac cac 303  
 Gly Gly His Gly His Ala Gly His His His His His His His His  
 65 70 75  
 cac cac ccg ccc atg atc gcg ctg cag ccg ctg gtc acc gac gac ccg 351  
 His His Pro Pro Met Ile Ala Leu Gln Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro  
 80 85 90  
 acc caa gtg cac cac caa gag gtg att ctg gtg cag acg cgc gag 399  
 Thr Gln Val His His Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu  
 95 100 105  
 gag gta gtg ggt ggc gac gac tcg gac ggg ctg cgc gcc gag gac ggg 447  
 Glu Val Val Gly Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly  
 110 115 120 125  
 ttc gag gac cag atc ctc att ccg gta ccc gcg ccg gcc gga gac 495  
 Phe Glu Asp Gln Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp  
 130 135 140  
 gac gac tac atc gag cag acg ctg gtc acc gtg gcg gcc ggc aag 543  
 Asp Asp Tyr Ile Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys  
 145 150 155  
 agc ggt ggc ggg tct tcg tcg ggc ggc cgc gtt aag aag ggc ggc 591  
 Ser Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly  
 160 165 170  
 ggc aag aag agc ggc aag aag agt tac ctg ggc agc ggg gcc ggc gcg 639  
 Gly Lys Lys Ser Gly Lys Ser Tyr Leu Gly Ser Gly Ala Gly Ala  
 175 180 185  
 gcg ggc ggt ggc ggc gac ccg ggt aat aag aag tgg gaa cag aag 687  
 Ala Gly Gly Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys  
 190 195 200 205  
 cag gtg cag atc aag acc ctg gag ggc gag ttc tcg gtc acc atg tgg 735  
 Gln Val Gln Ile Lys Thr Leu Glu Gly Glu Phe Ser Val Thr Met Trp  
 210 215 220  
 tct tca gat gaa aaaaaaaaaaaaaaa gat att gac cat gaa aca gtg gtt gaa gag 783

Ser Ser Asp Glu Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu			
225	230	235	
cag atc att ggg gag aac tca cct cct gat tat tct gaa tat atg aca			831
Gln Ile Ile Gly Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr			
240	245	250	
ggc aag aaa ctc cct cct gga ggg ata cct ggc att gac ctc tca gac			879
Gly Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp			
255	260	265	
ccc aag caa ctg gca gaa ttt gcc aga atg aag cca aga aaa att aaa			927
Pro Lys Gln Leu Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys			
270	275	280	285
gaa gat gat gct cca aga aca ata gct tgc cct cat aaa ggc tgc aca			975
Glu Asp Asp Ala Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr			
290	295	300	
aag atg ttc agg gat aac tct gct atg aga aag cat ctg cac acc cac			1023
Lys Met Phe Arg Asp Asn Ser Ala Met Arg Lys His Leu His Thr His			
305	310	315	
ggc ccc aga gtc cac gtc tgt gca gaa tgt ggc aaa gcg ttc gtt gag			1071
Gly Pro Arg Val His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu			
320	325	330	
agc tca aag ct <sub>a</sub> aaa cga cac c <sub>a</sub> gtc gtt cat act gga gaa aag ccc			1119
Ser Ser Lys Leu Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro			
335	340	345	
ttt cag gtagagccag ttctgttcc ccaaactgca agctagggtg ctggtcaggg			1175
Phe Gln			
350			
tggttgatat caagcactat gggcaccgg ttgggttatt ttattccat ccctcctgtc			1235
tgcttgggtt cctggttact gctgggact gcaggtgtta cagatggggg tggagggatt			1295
atgcgaagca ccccccacact aaatttctag caggtttaca aaaactcaac agttttgttt			1355
tgttgtgagt agtgtgttga attactgata gagtgcttat aagtgctgtt ggctacagct			1415
ccaggtgaca cttggtgctg cttata <sub>g</sub> aag actcgtgagt tgacagttgg catcactaaa			1475
tatcttaatc atctgttagtc tactccttag agtgtctctg aaaacactca agctgtaaat			1535
ttgcactcag cacagccctt ctgttctca agaactagcc atgggttggt agtatacagag			1595
atcccagtgt gtcagttcta aaataccctc agaagggttc cagacgagga aggaggcatg			1655
ctcagcagaa tagtaggtgg tttccatcta agcagtgagc catcgatccc caggttctgg			1715
tctcatttgc caagagggtt gatatctggt tttccttga cag tgc aca ttc gaa			1770
Cys Thr Phe Glu			
355			
ggc tgc ggg aag cgc ttt tca ctg gac ttc aat ttg cgc acg cat gtg			1818
Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn Leu Arg Thr His Val			
360	365	370	

cga atc cat acc gga gac agg ccc tat gtg tgc ccc ttc gac ggt tgt	1866
Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys Pro Phe Asp Gly Cys	
375 380 385	
aat aag aag ttt gct cag tca act aac ctg aaa tct cac atc tta aca	1914
Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys Ser His Ile Leu Thr	
390 395 400	
cac gct aaa gcc aaa aac aac cag tgaaaagaag agagaagacc ttctcgaccc	1968
His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln	
405 410	
cggaaaggct cttaggagt gtgattggga ataaatatgc ctctcccttg tatattttt	2028
cttagaagaa tttaaaaat gaatcctaca cacttaaggg acatgtttt ataaagtagt	2088
aaaaatttaa aaaaatactt taataagatg acattgctaa gatgctctat cttgctctgt	2148
aatctcgaaa caaaaacaag gtgttttgt aaagtgtggc cccaacagga ggacaattca	2208
tgaacttcgc atcaaaagac aattctttat acaacagtgc taaaaatg	2256

<210> 2  
 <211> 411  
 <212> PRT  
 <213> Rattus norv.

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1759)..(1917)  
 <223> Zinkfinger

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (955)..(1125)  
 <223> Zinkfinger

<400> 2

Met Ala Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly Ser Glu Met  
 1 5 10 15

Pro Ala Glu Ile Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu Thr Ile Pro  
 20 25 30

Val Glu Thr Ile Glu Thr Thr Val Val Gly Glu Glu Asp Asp Asp  
 35 40 45

Glu Asp Asp Glu Asp Gly Gly Asp His Gly Gly Gly Gly  
 50 55 60

His Gly His Ala Gly His His His His His His His His His Pro  
 65 70 75 80

Pro Met Ile Ala Leu Gln Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro Thr Gln Val  
85 90 95

His His His Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu Glu Val Val  
100 105 110

Gly Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly Phe Glu Asp  
115 120 125

Gln Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp Asp Asp Tyr  
130 135 140

Ile Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys Ser Gly Gly  
145 150 155 160

Gly Ser Ser Ser Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly Gly Lys Lys  
165 170 175

Ser Gly Lys Lys Ser Tyr Leu Gly Ser Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly  
180 185 190

Gly Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys Gln Val Gln  
195 200 205

Ile Lys Thr Leu Glu Gly Glu Phe Ser Val Thr Met Trp Ser Ser Asp  
210 215 220

Glu Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu Gln Ile Ile  
225 230 235 240

Gly Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr Gly Lys Lys  
245 250 255

Leu Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp Pro Lys Gln  
260 265 270

Leu Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys Glu Asp Asp  
275 280 285

Ala Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr Lys Met Phe  
290 295 300

Arg Asp Asn Ser Ala Met Arg Lys His Leu His Thr His Gly Pro Arg  
305 310 315 320

Val His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu Ser Ser Lys  
325 330 335

Leu Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro Phe Gln Cys  
340 345 350

Thr Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn Leu Arg  
355 360 365

Thr His Val Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys Pro Phe  
370 375 380

Asp Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys Ser His  
385 390 395 400

Ile Leu Thr His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln  
405 410

<210> 3  
<211> 2256  
<212> DNA  
<213> Rattus norv.

<220>  
<221> CDS  
<222> (73)..(1125)  
<223> YY1 (SHR)

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1759)..(1917)  
<223> Zinkfinger

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (955)..(1125)  
<223> Zinkfinger

<220>  
<221> Intron  
<222> (1126)..(1758)  
<223>

<220>  
<221> promoter  
<222> (1)..(72)  
<223>

<220>  
<221> CDS  
<222> (1759)..(1938)  
<223> VV1 (SHR)

<400> 3  
 ccgcctc cccgcctc cccgagccca ggagccgagg ctgcccggc cgtggccgc  
 gagccctca g cc atg gcc tcg ggc gac acc ctc tac att gcc acg gac ggc  
 Met Ala Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly  
 1 5 10  
 tcg gag atg cca gcc gag atc gtg gaa ctg cat gag att gag gtg gag 159  
 Ser Glu Met Pro Ala Glu Ile Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu  
 15 20 25  
 acc atc ccg gtg gag act atc gag acc acg gtg gtg ggc gag gag gag 207  
 Thr Ile Pro Val Glu Thr Ile Glu Thr Val Val Gly Glu Glu Glu  
 30 35 40 45  
 gac gac gac gaa gac gac gag gat ggt ggc ggc gga gac cac ggt ggc 255  
 Asp Asp Asp Glu Asp Asp Glu Asp Gly Gly Gly Asp His Gly Gly  
 50 55 60  
 ggg ggc ggc cac ggg cac gct ggc cac cac cat cac cac cac cac cac 303  
 Gly Gly His Gly His Ala Gly His His His His His His His His His  
 65 70 75  
 cac cac ccg ccc atg atc gcg ctg cag ccg ctg gtc acc gac gac ccg 351  
 His His Pro Pro Met Ile Ala Leu Gln Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro  
 80 85 90  
 acc caa gtg cac cac cac caa gag gtg att ctg gtg cag acg cgc gag 399  
 Thr Gln Val His His His Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu  
 95 100 105  
 gag gta gtg ggt ggc gac gac tcg gac ggg ctg cgc gcc gag gac ggg 447  
 Glu Val Val Gly Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly  
 110 115 120 125  
 ttc gag gac cag atc ctc att ccg gta ccc gcg ccg gcc ggc gga gac 495  
 Phe Glu Asp Gln Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp  
 130 135 140  
 gac gac tac atc gag cag acg ctg gtc acc gtg gcg gcg gcc ggc aag 543  
 Asp Asp Tyr Ile Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys  
 145 150 155  
 agc ggt ggc ggg tct tcg tcg ggc ggc cgc gtt aag aag ggc ggc 591  
 Ser Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly  
 160 165 170  
 ggc aag aag agt ggc aag aag agt tac ctg ggc agc ggg gcc ggc gcg 639  
 Gly Lys Lys Ser Gly Lys Lys Ser Tyr Leu Gly Ser Gly Ala Gly Ala  
 175 180 185  
 ggc ggc ggt ggc ggc gtc gac ccg ggt aaat aag aag tgg gaa cag aag 687  
 Ala Gly Gly Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys  
 190 195 200 205

cag gtg cag atc aag acc ctg gag ggc gag ttc tcg gtc acc atg tgg Gln Val Gln Ile Lys Thr Leu Glu Gly Glu Phe Ser Val Thr Met Trp 210 215 220	735
tct tca gat gaa aaa aaa gat att gac cat gaa aca gtg gtt gaa gag Ser Ser Asp Glu Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu 225 230 235	783
cag atc att ggg gag aac tca cct cct gat tat tct gaa tat atg aca Gln Ile Ile Gly Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr 240 245 250	831
ggc aag aaa ctc cct cct gga ggg ata cct ggc att gac ctc tca gac Gly Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp 255 260 265	879
ccc aag caa ctg gca gaa ttt gcc aga atg aag cca aga aaa att aaa Pro Lys Gln Leu Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys 270 275 280 285	927
gaa gat gat gct cca aga aca ata gct tgc cct cat aaa ggc tgc aca Glu Asp Asp Ala Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr 290 295 300	975
aag agg ttc agg gat aac tct gct atg aaa aag cat ctg cac acc cac Lys Arg Phe Arg Asp Asn Ser Ala Met Lys Lys His Leu His Thr His 305 310 315	1023
ggc ccc aga gtc cac gtc tgt gca gaa tgt ggc aaa gcg ttc gtt gag Gly Pro Arg Val His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu 320 325 330	1071
agc tca aag cta aaa cga cac cag ctg gtt cat act gga gaa aag ccc Ser Ser Lys Leu Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro 335 340 345	1119
ttt cag gttagagccag ttccctgttcc ccaaactgca agcttagggtg ctggtcaggg Phe Gln 350	1175
tggttgatat caagcactat ggggcacccgg ttggggtatt ttattcccat ccctcctgtc	1235
tgcgtgggtt cctggttact gctcgggact gcaggtgtta cagatggggg tggagggatt	1295
atgcgaagca cccccacact aaatttctag caggtttaca aaaactcaac agttttgttt	1355
tgttagtgagt agtgtgttga attactgata gagtgcttat aagtgtgtt ggctacagct	1415
ccaggtgaca cttggtgctg cttatagaag acacgtgaat tgacagttgg catcactaaa	1475
tatcttaatc atctgtgttc tacttcttag agtgtctctg aaaacactca agctgtaaat	1535
ttgcactcag cacagccctt ctgtttctca agaactagcc atgggttgtt agtacagag	1595
atcccagtgt gtcagttcta aaataccctc acaagggttc cagacgagga aggaggcctg	1655
ctcagcagaa tagtaggtgg tttccatcta agcagtgagc catcgatccc caggttctgg	1715
tctcatttgc caagagggtt gatatctgg tttcccttga cag tgc aca ttc gaa	1770

Cys	Thr	Phe	Glu
355			

ggc tgc ggg aag cgc ttt tca ctg gac ttc aat ttg cgc acg cat gtg	1818		
Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn Leu Arg Thr His Val			
360	365	370	

cga atc cat acc gga gac agg ccc tat gtg tgc ccc ttc gac ggt tgt	1866		
Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys Pro Phe Asp Gly Cys			
375	380	385	

aat aag aag ttt gct cag tca act aac ctg aaa tct cac atc tta aca	1914		
Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys Ser His Ile Leu Thr			
390	395	400	

cac gct aaa gcc aaa aac aac cag tgaaaaagaag agagaagacc ttctcgaccc	1968		
His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln			
405	410		

cgggaaggct cttcaggagt gtgattggga ataaatatgc ctctcccttg tatattat	2028
---	------

ctaggaagaa ttttaaaaat gaatcctaca cacttaaggg acatgtttt gataaagttagt	2088
--	------

aaaaatttaa aaaaataactt taataagatg acattgctaa gatgctctat cttgctctgt	2148
--	------

aatctcgttt caaaaacaag gtgttttgt aaagtgtggt cccaacagga ggacaattca	2208
--	------

tgaacttcgc atcaaaagac aattctttat acaacagtgc taaaaatg	2256
--	------

```

<210> 4
<211> 411
<212> PRT
<213> Rattus norv.
<220>
<221> misc_feature
<222> (1759)..(1917)
<223> Zinkfinger

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (955)..(1125)
<223> Zinkfinger

```

```

<400> 4

```

Met Ala Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly Ser Glu Met			
1	5	10	15

Pro Ala Glu Ile Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu Thr Ile Pro			
20	25	30	

Val Glu Thr Ile Glu Thr Thr Val Val Gly Glu Glu Asp Asp Asp			
35	40	45	

Glu Asp Asp Glu Asp Gly Gly Gly Asp His Gly Gly Gly Gly			
50	55	60	

His Gly His Ala Gly His Pro  
65 70 75 80

Pro Met Ile Ala Leu Gln Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro Thr Gln Val  
85 90 95

His His His Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu Glu Val Val  
100 105 110

Gly Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly Phe Glu Asp  
115 120 125

Gln Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp Asp Asp Tyr  
130 135 140

Ile Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys Ser Gly Gly  
145 150 155 160

Gly Ser Ser Ser Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly Gly Lys Lys  
165 170 175

Ser Gly Lys Ser Tyr Leu Gly Ser Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly  
180 185 190

Gly Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys Gln Val Gln  
195 200 205

Ile Lys Thr Leu Glu Gly Glu Phe Ser Val Thr Met Trp Ser Ser Asp  
210 215 220

Glu Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu Gln Ile Ile  
225 230 235 240

Gly Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr Gly Lys Lys  
245 250 255

Leu Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp Pro Lys Gln  
260 265 270

Leu Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys Glu Asp Asp  
275 280 285

Ala Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr Lys Arg Phe  
290 295 300

Arg Asp Asn Ser Ala Met Lys Lys His Leu His Thr His Gly Pro Arg  
 305 310 315 320

Val His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu Ser Ser Lys  
 325 330 335

Leu Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro Phe Gln Cys  
 340 345 350

Thr Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn Leu Arg  
 355 360 365

Thr His Val Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys Pro Phe  
 370 375 380

Asp Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys Ser His  
 385 390 395 400

Ile Leu Thr His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln  
 405 410

<210> 5  
 <211> 1600  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (43)..(1284)  
 <223> YY1 (Human)

<400> 5  
 gaattcggca cgagggcgcc cgtggcgccg gagccctcag cc atg gcc tcg ggc 54  
 Met Ala Ser Gly  
 1

gac acc ctc tac atc gcc acg gac ggc tcg gag atg ccg gcc gag atc 102  
 Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly Ser Glu Met Pro Ala Glu Ile  
 5 10 ... 15 20

gtg gag ctg cat gag atc gag gtg gag acc atc ccg gtg gag acc atc 150  
 Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu Thr Ile Pro Val Glu Thr Ile  
 25 30 35

gag acc acg gtg gtg ggc gag gag gag gag gag gac gac gac gag 198  
 Glu Thr Thr Val Val Gly Glu Glu Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu  
 40 45 50

gac ggc ggc ggc gac cac ggc ggc ggg ggc ggc cac ggg cac	246
Asp Gly Gly Gly Asp His Gly Gly Gly Gly Gly His Gly His	
55 60 65	
gcc ggc cac cac cat cac cac cac cac cac cac cac ccc	294
Ala Gly His Pro Pro	
70 75 80	
atg atc gcg ctg gag ccg ctg gtg acg gac ccg acc caa gtg cac	342
Met Ile Ala Leu Glu Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro Thr Gln Val His	
85 90 95 100	
cac ctc cag gag gtg atc ctg gtg cag acg cgc gag gag gtc gtc ggg	390
His Leu Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu Glu Val Val Gly	
105 110 115	
ggg gac gac tcg gac ggg ctg cgc gcc gag gac ggc ttc gag gac gag	438
Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly Phe Glu Asp Glu	
120 125 130	
atc ctc atc ccg gtg ccc gcg ccg gcc ggc gac gac tac ata	486
Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp Asp Asp Tyr Ile	
135 140 145	
gag cag acg ctg gtc acc gtg gcg gcc ggc aag agc ggc ggc ggg	534
Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys Ser Gly Gly Gly	
150 155 160	
gcc tcg tcg ggc ggc ggt cgc gtg aag aag ggc ggc ggc aag aag agc	582
Ala Ser Ser Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly Lys Lys Ser	
165 170 175 180	
ggc aag aag agt tac ctg ggc ggg ggc ggc gcg ggc ggc ggc ggc	630
Gly Lys Lys Ser Tyr Leu Gly Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Gly	
185 190 195	
ggc gcc gac ccg ggg aat aag aag tgg gag cag aag cag gtg cag atc	678
Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys Gln Val Gln Ile	
200 205 210	
aag acc ctg gag ggc gag tcc tcg gtc acc atg tgg tcc tcg gat gaa	726
Lys Thr Leu Glu Gly Ser Ser Val Thr Met Trp Ser Ser Asp Glu	
215 220 225	
aaa aaa gat att gac cat gaa aca gtg gtt gaa gag cag atc att gga	774
Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu Gln Ile Ile Gly	
230 235 240	
gag aac tca cct cct gat tat tct gaa tat atg aca ggc aag aaa ctc	822
Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr Gly Lys Lys Leu	
245 250 255 260	
cct cct gga ggg ata cct ggc att gac ctc tca gac cct aag caa ctg	870
Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp Pro Lys Gln Leu	
265 270 275	
gca gaa ttt gcc aga atg aag cca aga aaa att aaa gaa gat gat gct	918
Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys Glu Asp Asp Ala	
280 285 290	

cca aga aca ata gct tgc cct cat aaá ggc tgc aca aag atg ttc agg Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr Lys Met Phe Arg 295 300 305	966
gat aac tct gct atg aga aag cat ctg cac acc cac ggt ccc aga gtc Asp Asn Ser Ala Met Arg Lys His Leu His Thr His Gly Pro Arg Val 310 315 320	1014
cac gtc tgt gca gag tgt ggc aaa gcg ttc gtt gag agc tca aag cta His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu Ser Ser Lys Leu 325 330 335 340	1062
aaa cga cac cag ctg gtt cat act gga gaa aag ccc ttt cag tgc aca Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro Phe Gln Cys Thr 345 350 355	1110
ttc gaa ggc tgc ggg aag cgc ttt tca ctg gac ttc aat ttg cgc aca Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn Leu Arg Thr 360 365 370	1158
cat gtg gga atc cat acc gga gac agg ccc tat gtg tgc ccc ttc gac His Val Gly Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys Pro Phe Asp 375 380 385	1206
ggt tgt aat aag aag ttt gct cag tca act aac ctg aaa tct cac atc Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys Ser His Ile 390 395 400	1254
tta aca cac gct aaa gcc aaa aac aac cag tgaaaaagaag agagaagacc Leu Thr His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln 405 410	1304
ttctcgaccc gggaagcctc ttcaaggatg agattggaa taaaatatgcc tctcctttgt atattatttc taggaagaat tttaaaaatg aatcctacac acttaaggga catgtttga taaagtagta aaaatttaaa aaatactta ataagatgac attgctaaga tgctatatct tgctctgtaa tctcgatca aaaacaaggt gttttgtaa agtgtggtcc caacaggagg acaattcatg aacttcgcat caaaaagacaa ttcttatac aacagtgcta aaaatg	1364 1424 1484 1544 1600

<210> 6  
<211> 414  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Ala Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly Ser Glu Met  
1 5 10 15

Pro Ala Glu Ile Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu Thr Ile Pro  
20 25 30

Val Glu Thr Ile Glu Thr Thr Val Val Gly Glu Glu Glu Glu Asp  
35 40 45

Asp Asp Asp Glu Asp Gly Gly Gly Asp His Gly Gly Gly Gly  
50 55 60

Gly His Gly His Ala Gly His His His His His His His His His  
65 70 75 80

His His Pro Pro Met Ile Ala Leu Glu Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro  
85 90 95

Thr Gln Val His His Leu Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu  
100 105 110

Glu Val Val Gly Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly  
115 120 125

Phe Glu Asp Glu Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp  
130 135 140

Asp Asp Tyr Ile Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys  
145 150 155 160

Ser Gly Gly Ala Ser Ser Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly  
165 170 175

Gly Lys Lys Ser Gly Lys Ser Tyr Leu Gly Gly Ala Gly Ala  
180 185 190

Ala Gly Gly Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys  
195 200 205

Gln Val Gln Ile Lys Thr Leu Glu Gly Glu Ser Ser Val Thr Met Trp  
210 215 220

Ser Ser Asp Glu Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu  
225 230 235 240

Gln Ile Ile Gly Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr  
245 250 255

Gly Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp  
260 265 270

Pro Lys Gln Leu Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys  
275 280 285

Glu Asp Asp Ala Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr  
 290 295 300

Lys Met Phe Arg Asp Asn Ser Ala Met Arg Lys His Leu His Thr His  
 305 310 315 320

Gly Pro Arg Val His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu  
 325 330 335

Ser Ser Lys Leu Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro  
 340 345 350

Phe Gln Cys Thr Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe  
 355 360 365

Asn Leu Arg Thr His Val Gly Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val  
 370 375 380

Cys Pro Phe Asp Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu  
 385 390 395 400

Lys Ser His Ile Leu Thr His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln  
 405 410

<210> 7  
 <211> 1080  
 <212> DNA  
 <213> Rattus norv.

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (883)..(894)  
 <223> Verkürzter Zinkfinger (BB.6S)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (898)..(1056)  
 <223> Verkürzter Zinkfinger (BB.6S)

<400> 7  
 atggcctcggt ggcacaccctt ctacattgcc acggacggctt cggagatgcc agccgagatc 60  
 gtggaaactgc atgagattgtt ggtggagacc atcccggtgg agactatcga gaccacggtg 120  
 gtggggcgagg aggaggacga cgacgaaagac gacgaggatgt gtggcggcgg agaccacgg 180  
 ggccggggcg gccacggcgtt cgctggccac caccatcacc accaccatcca ccaccacccg 240

cccatgatcg cgctgcagcc gctggtcacc gacgacccga cccaaagtgc a ccaccaccaa	300
gaggtgattc tggtgccagac ggcgcaggag gtagtgggtg ggcacgactc ggacgggctg	360
cgccgcgagg acgggttcga ggaccagatc ctcattccgg taccgcgcgc ggccggcgga	420
gacgacgact acatcgagca gacgctggc accgtggcgg cggccggcaa gagcgggtggc	480
gggtcttcgt cgggcggcgg cgcgttaag aaggcggcgc gcaagaagag cggcaagaag	540
agttacctgg gcagcggg gc cggcgcggc ggccgtggc ggcgcgaccc ggttaataag	600
aagtggaaac agaagcaggt gcagatcaag accctggagg gcgagttctc ggtcaccatg	660
tggtcttcag atgaaaaaaaaa agatattgac catgaaacag tggttgaaga gcagatcatt	720
ggggagaact cacctcctga ttattctgaa tatatgacag gcaagaaact ccctcctgga	780
gggataacctg gcattgacct ctcagacccc aagcaactgg cagaatttgc cagaatgaag	840
ccaagaaaaaaaaa tt aaagaaga tgatgctcca agaacaatacg ct tgc cct cat aaa	894
Cys Pro His Lys	
1	
cag tgc aca ttc gaa ggc tgc ggg aag cgc ttt tca ctg gac ttc aat	942
Cys Thr Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn	
5 10 15	
ttg cgc acg cat gtg cga atc cat acc gga gac agg ccc tat gtg tgc	990
Ieu Arg Thr His Val Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys	
20 25 30 35	
ccc ttc gac ggt tgt aat aag aag ttt gct cag tca act aac ctg aaa	1038
Pro Phe Asp Gly Cys Asn Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys	
40 45 50	
tct cac atc tta aca cac gctaaagcca aaaacaacca gtga	1080
Ser His Ile Leu Thr His	
55	

<210> 8  
 <211> 57  
 <212> PRT  
 <213> Rattus norv.

<400> 8	
Cys Pro His Lys Cys Thr Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu	
1 5 10 15	
Asp Phe Asn Leu Arg Thr His Val Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro	
20 25 30	

Tyr Val Cys Pro Phe Asp Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr  
35 40 45

Asn Leu Lys Ser His Ile Leu Thr His  
50 55

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/14762

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 7 C07K14/47 C12N15/11 A61K38/17 G01N33/50 A01K67/027

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, Sequence Search, EMBASE, BIOSIS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 93/04076 A (UNIV PRINCETON) 4 March 1993 (1993-03-04) figure 11; sequences 1,2 page 39, line 22 - page 40, line 27; figures 21-23 page 43, line 26 - line 34 claim 59	11,12
A	-----	1-10,13
X	WO 98/33067 A (ROMERIO FABIO ; DEVICO ANTHONY (US); MARGOLIS DAVID (US); UNIV MARYLAN) 30 July 1998 (1998-07-30) page 10, line 36 - line 37 figure 11 page 14, line 18 - page 15, line 25 page 21, line 14 - page 22, line 14 page 35, line 1 - page 38, line 12 page 66, line 19 - line 20.	11,12
A	-----	1-10, 16-21
	-----	-/-

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority, claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the International search report

27 August 2004

07/09/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bayer, A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/14762

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KLÖTING I ET AL: "Genes of SHR rats protect spontaneously diabetic BB/OK rats from diabetes: lessons from congenic BB.SHR rat strains." BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS. 4 MAY 2001, vol. 283, no. 2, 4 May 2001 (2001-05-04), pages 399-405, XP002293254 ISSN: 0006-291X cited in the application das ganze Dokument, insbesondere die Diskussion -----	1-28

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/14762

Patent document cited in search report	Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 9304076	A 04-03-1993	WO	9304076 A1	04-03-1993
WO 9833067	A 30-07-1998	AU WO	6240098 A 9833067 A1	18-08-1998 30-07-1998

# INTERNATIONAHLER RECHERCHENBERICHT

nationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/14762

A. KLASSEFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
 IPK 7 C07K14/47 C12N15/11 A61K38/17 G01N33/50 A01K67/027

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, Sequence Search, EMBASE, BIOSIS

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>a</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 93/04076 A (UNIV PRINCETON) 4. März 1993 (1993-03-04) Abbildung 11; Sequenzen 1,2 Seite 39, Zeile 22 - Seite 40, Zeile 27; Abbildungen 21-23 Seite 43, Zeile 26 - Zeile 34 Anspruch 59	11,12
A	WO 98/33067 A (ROMERIO FABIO ; DEVICO ANTHONY (US); MARGOLIS DAVID (US); UNIV MARYLAN) 30. Juli 1998 (1998-07-30) Seite 10, Zeile 36 - Zeile 37 Abbildung 11 Seite 14, Zeile 18 - Seite 15, Zeile 25 Seite 21, Zeile 14 - Seite 22, Zeile 14 Seite 35, Zeile 1 - Seite 38, Zeile 12 Seite 66, Zeile 19 - Zeile 20	1-10,13
X	WO 98/33067 A (ROMERIO FABIO ; DEVICO ANTHONY (US); MARGOLIS DAVID (US); UNIV MARYLAN) 30. Juli 1998 (1998-07-30) Seite 10, Zeile 36 - Zeile 37 Abbildung 11 Seite 14, Zeile 18 - Seite 15, Zeile 25 Seite 21, Zeile 14 - Seite 22, Zeile 14 Seite 35, Zeile 1 - Seite 38, Zeile 12 Seite 66, Zeile 19 - Zeile 20	11,12
A	WO 98/33067 A (ROMERIO FABIO ; DEVICO ANTHONY (US); MARGOLIS DAVID (US); UNIV MARYLAN) 30. Juli 1998 (1998-07-30) Seite 10, Zeile 36 - Zeile 37 Abbildung 11 Seite 14, Zeile 18 - Seite 15, Zeile 25 Seite 21, Zeile 14 - Seite 22, Zeile 14 Seite 35, Zeile 1 - Seite 38, Zeile 12 Seite 66, Zeile 19 - Zeile 20	1-10, 16-21
		-/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- <sup>a</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweiteilhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Nutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

27. August 2004

07/09/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3018

Bevollmächtigter Bediensteter

Bayer, A

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/14762

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>KLÖTING I ET AL: "Genes of SHR rats protect spontaneously diabetic BB/OK rats from diabetes: lessons from congenic BB.SHR rat strains."</p> <p>BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS. 4 MAY 2001, Bd. 283, Nr. 2, 4. Mai 2001 (2001-05-04), Seiten 399-405, XP002293254</p> <p>ISSN: 0006-291X</p> <p>in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument, insbesondere die Diskussion</p> <p>-----</p>	1-28

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

nationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/14762

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9304076	A 04-03-1993	WO	9304076 A1	04-03-1993
WO 9833067	A 30-07-1998	AU WO	6240098 A 9833067 A1	18-08-1998 30-07-1998